

**HISTAMINFREISETZUNG IN
SPEICHELDRÜSEN UND MAGEN
UNTER PHYSIOLOGISCHEN UND
PATHOPHYSIOLOGISCHEN BEDINGUNGEN**

Antje Reimann-Huhnd

1973

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Klinische
Biochemie der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Werle

HISTAMINFREISETZUNG IN SPEICHELDRÜSEN UND MAGEN
UNTER PHYSIOLOGISCHEN UND PATHOPHYSIOLOGISCHEN
BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig
Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Antje Reimann-Huhnd

aus
Höhnstedt/Halle

München 1973



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Lorenz
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. E. Werle
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 17.7.1973	

INHALT

1. DANKBARKEIT

A. DANKBARKEIT

- 1.1. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 1.2. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 1.3. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 1.4. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT

B. DANKBARKEIT

- 2.1. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.2. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.3. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.4. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.5. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.6. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.7. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.8. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.9. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT
- 2.10. DANKBARKEIT UND DANKBARKEIT

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet!

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. THEORETISCHER TEIL	
A. Speicheldrüsen	
A.1. Vorkommen und Stoffwechsel von Histamin in Speicheldrüsen	3
A.2. Freisetzung von Histamin	5
A.3. Hemmung durch Antihistaminika	7
B. Magensaftsekretion	
B.1. Vorkommen von Histamin	9
B.2. Stoffwechsel von Histamin im Magen	10
B.3. Freisetzung von Histamin im Magen	12
B.4. Bedeutung der Freisetzung von Histamin bei der Streßulcuspathogenese	14
B.5. Fehlende Hemmbarkeit der Magensaftsekretion durch Antihistaminika	16
III. ZIEL DER ARBEIT	17
IV. METHODIK	
A. Versuchstiere	19
B. Material	19
C. Isolation von Histamin aus Geweben und Speichel zur fluorometrischen Bestimmung	20
C.1. Histaminbestimmung durch Kationenaustausch-Chromatographie mit Dowex 50 (Dowex-Methode)	20
C.2. Histaminbestimmung mittels Butanol-extraktion (Shore-Methode)	21

C.3. Histaminbestimmung durch Kationenaustausch-Chromatographie an Dowex 50, gefolgt von Butanolextraktion (Kombinierte Methode)	21
C.4. Isolierung von Histamin durch eine modifizierte kombinierte Methode zur chemischen Identifizierung	21
D. Methode der Identifizierung	
D.1. Spektrum-Vergleich	22
D.2. Abbau durch Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase	22
D.3. Identifizierung durch Dünnschichtchromatographie	23
E. Versuchstechnik	
E.1. Heidenhain-pouch	24
E.2. Speichelfistel	25
E.3. Pankreas- und Gallefistel	25
E.4. Streßulcustechnik	26
F. Statistik	27

V. ERGEBNISSE

1. Chemische Identifizierung von Histamin im Speichel	28
1a. Vergleich von drei Isolierungsmethoden	28
1b. Fotografie einer Dünnschichtplatte	28
1c. Tabelle über RF-Werte	31
1d. Diaminoxidase- und Histaminmethyltransferase-Abbaugeschwindigkeiten	31
1e. Spektrum	31
2. Messung von Histamin im Speichel	35
3. Beeinflussung des Histaminstoffwechsels durch Amodiaquin	36

	Seite
3a. Dosiswirkungskurve für die Steigerung der Magensaftsekretion durch Amodiaquin	36
3b. Abhängigkeit der Magensaftsekretionssteigerung durch Amodiaquin zu der Pentagastrindosis	36
3c. Wirkung von Amodiaquin auf Speicheldrüsen, Galle und Pankreas	38
4. Einfluß von Pharmaka des Histaminstoffwechsels und Hypothermie (Histaminfreisetzung) bei der Streßulcuspathogenese	40
VI. DISKUSSION	
1. Speichelmodelle	
2. Histamintheorie der Magensaftsekretion	46
3. Streßulcuspathogenese	50
VII. ZUSAMMENFASSUNG	
1. Histamin und Speichelsekretion	52
2. Histamin und Magensaftsekretion	53
3. Streßulcuspathogenese	54
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	55

I. E I N L E I T U N G :

Seit Histamin im Jahre 1910 durch ACKERMANN sowie BARGER und DALE als Naturstoff entdeckt wurde, sind darüber zahlreiche Monographien und Übersichtsarbeiten sowie Tausende von Originalarbeiten veröffentlicht worden. Die Literatur ist kaum überschaubar. Die Frage aber, ob den pharmakologischen Wirkungen von Histamin, wie Stimulierung der Sekretion exokriner Drüsen, Erregung der glatten Muskulatur und Blutdrucksenkung im peripheren Kreislauf auch physiologische Funktionen entsprechen, erscheint auch heute noch nicht in allen Punkten restlos geklärt.

Die Ursachen hierfür dürften in erster Linie darin liegen, daß Histamin im Gegensatz zu anderen körpereigenen Wirkstoffen, deren Bildungs- oder Speicherorte auf eines oder nur wenige Organe begrenzt sind, ubiquitär vorkommt (FELDBERG, 1956). Ausfallerscheinungen, wie sie bei der Entfernung eines endokrinen Organs beobachtet werden, sind daher nicht zu erwarten; die Versuche, durch histidin- bzw. histaminarme Diät, Histaminfreisetzung und spezifische Hemmung der Histaminbildung ein "histaminfreies" Tier zu erzeugen (AURES and CLARK, 1964), um daran Dysfunktionen von Organen oder Organsystemen nachzuweisen, blieben bisher ohne Erfolg.

Darüberhinaus bestehen, was Histaminbildung und -umsatz betrifft, große Speziesunterschiede, so daß aus Einzelergebnissen an einem Labortier keine Relevanzen für die Verhältnisse bei anderen Tieren oder gar beim Menschen abgeleitet werden können. Schließlich gelingt es, durch Antihistaminika, die mehr oder weniger spezifischen Histaminantagonisten, nicht alle pharmakologischen Histaminwirkungen zu hemmen, wie z. B. nicht die Stimulierung der Magensaftsekretion (IVY, A., 1966) oder die Steigerung der Herzfrequenz (BERNAUER, W. et al., 1965a und 1965b).

Die meisten Ergebnisse, die für eine physiologische Funktion des Histamins sprechen, wurden bisher am Magen erarbeitet (CODE, 1966; LORENZ und PFLEGER, 1968; WERLE und LORENZ, 1964 und 1966), während die funktionelle Bedeutung des Histamins in den großen Kopfspeicheldrüsen nach Untersuchungen von LORENZ u. Mitarb. (1968b) bisher nur für den Hund als erwiesen gelten kann. Mit der Histaminfreisetzung in Speicheldrüsen und im Magen von Hund, Katze und Ratte unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen soll sich die vorliegende Arbeit beschäftigen.

II. T H E O R E T I S C H E R T E I L :

A. Speicheldrüsen:

A.1. Vorkommen und Stoffwechsel von Histamin in Speicheldrüsen

Im Jahre 1964 wurde von WERLE und LORENZ erstmals Histamin in den Speicheldrüsen von Mensch und verschiedenen Tierarten entdeckt. Es stellte sich die Frage nach der physiologischen Bedeutung dieses biogenen Amins in diesen Drüsen (WERLE und LORENZ, 1966 und LORENZ et al., 1968b). Tab. 1 zeigt den Gehalt an Histamin in Speicheldrüsen verschiedener Spezies. Der Histamingehalt der Glandula submandibularis ist beim Menschen der geringste aller untersuchten Säugetiere. Die menschliche Parotis hingegen zeigt eine beinahe zweifach höhere Konzentration als die Submandibularis. Untersuchungen mit Histaminliberatoren und einfacheren histochemischen Verfahren zeigten, daß Histamin zum Teil in typischen Mastzellspeichern und zum anderen Teil in spezifischen Gewebshistaminspeichern lokalisiert ist (BRODIE, B. et al., 1966; LORENZ, W. et al., 1968a - c). Durch Behandlung mit 48/80 kann über 30 - 50 % Histamin aus der Glandula submandibularis und Parotis von Hund und Schwein freigesetzt werden; färbt man das Gewebe vor und nach dieser Behandlung mit Toluidinblau, zeigt sich, daß nach 48/80-Injektion über 60 - 70 % der Mastzellen verschwinden (LORENZ, W. et al., 1968a und 1969). Daraus wurde geschlossen, daß nur etwa 50 % des Histamins der Glandula submandibularis des Hundes in typischen Mastzellspeichern lokalisiert sind.

Die Nichtmastzellspeicher entsprechen wahrscheinlich dem APUD-System, in dem Histamin mit Serotonin und anderen biogenen Aminen gespeichert ist (Amine Precursor Uptake Decarboxylase Cells) (PEARSE, A. 1967; BOOZ, K. et al. 1966; SOLCIA, E. et al 1967; HÅKANSON, R. et al. 1967; THUNBERG, R., 1967). Zellen

Tab. 1: Gehalt an Histamin in Speicheldrüsen
verschiedener Spezies

Spezies	Histamingehalt in mikrogr/g Frischgewicht	
	Submandibularis	Parotis
Mensch	3,4 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 2,4
Schwein	28,6 $\pm$ 6,3	4,2 $\pm$ 0,6
Hund	16,6 $\pm$ 2,0	5,1 $\pm$ 1,5
Rind	15,4 $\pm$ 4,0	29,5 $\pm$ 5,0
Ratte	14,2 $\pm$ 4,6	34,2 $\pm$ 1,1

dieses Systems wurden in der menschlichen Glandula submandibularis im interlobulären Bindegewebe, an der Basalmembran der Acini und des Gangsystems angetroffen (BOOZ, K. et al., 1966). Dieser Speicher wurde auch als "glandotroper Histaminspeicher" bezeichnet.

In den Speicheldrüsen bei Mensch und verschiedenen Tierarten fand man nun Enzyme, die Histamin bilden und inaktivieren. Die Histidindecaboxylase-Aktivität konnte nach der Methode von LORENZ et al. (1969a) einmal im sauren und einmal im alkalischen pH-Bereich bestimmt werden. In der Parotis des Hundes konnte praktisch keine Histaminbildung gemessen werden, hingegen waren die Aktivitäten in der menschlichen Parotis höher als in der Glandula submandibularis. Weitere Eigenschaften dieses Enzyms wurden an der Submandibularis von Schwein und Ratte erforscht (LORENZ, W. et al., 1969a; GASTPAR, H. und LORENZ, W., 1971).

An abbauenden Enzymen konnte in der Submandibularis und Parotis von Mensch und einigen Säugetieren die Histaminmethyltransferase gefunden werden (LORENZ, W. et al., 1970). Die Frage, ob Speicheldrüsen eine Diaminoxidase enthalten, kann nicht einheitlich beantwortet werden. Die Enzymaktivität betrug in allen meßbaren Fällen nur 1/10 von der gemessenen Aktivität in Schweinenieren (KUSCHE, J. et al., 1969). Allerdings kann die Histaminwirkung durch den Diaminoxidasehemmer Aminoguanidin wesentlich verstärkt werden (LORENZ, W., unveröffentlicht).

A.2. Freisetzung von Histamin:

In Speicheldrüsen von Hund (LORENZ, W. et al., 1968b), Katze und Ratte (BRODIE et al., 1966; ERJAVEC et al., 1967) wird Histamin in Speicher aufgenommen, die durch parasymphath-

schen Reiz, nicht aber durch 48/80 entleert werden können (WERLE et al., 1964 und 1966; LORENZ et al., 1968a und c). Nach Stimulierung der Speichelsekretion mit 40 µg/kg Pilocarpin i.a. (in die Arteria maxillaris) vermindert sich trotz Histaminfreisetzung in den Speichel die Histaminmenge der Drüse nicht, da Histamin adaptativ neu gebildet wird (LORENZ et al., 1968b). Der Histamingehalt im Speichel betrug dann $9,0 \pm 4,3$ ng/ml (LORENZ et al., 1968a) (= Durchschnittswert von 24 Hunden). Nach 12 Sekretionsperioden jedoch ist der Histamingehalt der Nichtmastzellspeicher trotz erhöhter Fähigkeit der Drüse zur Histaminneubildung um 70 - 80 % erniedrigt (LORENZ et al., 1968b). Es besteht eine direkte Korrelation zwischen dem Volumen des sezernierten Speichels und der Menge des in ihm freigesetzten Histamins (WERLE und LORENZ, 1966). Nach Physostigminstimulierung verhalten sich Speichelvolumen und Histaminmenge im Speichel zueinander direkt proportional. Die Korrelationen von Speichelvolumina und Histaminmengen im Speichel nach Pilocarpin und Physostigmin weisen auf eine enge Beziehung zwischen Histaminfreisetzung und Speichelsekretion hin (LORENZ et al., 1968b).

Auch nach Carbachol und Acetylcholin wird Histamin in den Speichel freigesetzt und die Salivation angeregt. Nach Acetylcholininjektion (40 µg/kg i.a.) betrug der Histamingehalt 6 ng/ml Speichel.

Exogen zugeführtes Histamin erzeugt nach parasympathisch induzierter Salivation, insbesondere nach Physostigmin und Carbachol, aber auch nach Pilocarpin und nach i.a. Verabreichung von Bradykinin und Nicotin, eine beträchtliche Sekretion. Es besteht direkte Proportionalität zwischen Histaminliberierung und Zunahme der Aktivität der spezifischen Histidindecaboxylase. Das Antihistaminikum Mepyramin wirkt im Gegensatz zu allen anderen Antihistaminika als starker Histaminliberator und Sekretionsstimulator. Bereits MOTA et al. (1966) beobachteten eine Histaminliberierung durch Mepyramin aus Mastzellen. Das nach

vorhergehender Histaminreizung durch parasympathische Mechanismen vermehrt freigesetzte Histamin kann durch 48/80 nicht liberiert werden (BRODIE et al., 1966; LORENZ et al., 1968b; ERJAVEC et al., 1967). Meist wirkt Histamin nur im Zusammenhang mit der Freisetzung durch parasympathische Mechanismen, wenn es also zuvor in Nichtmastzellspeicher aufgenommen wurde (LORENZ et al., 1968b).

A.3. Hemmung durch Antihistaminika:

Die intraarterielle Anwendung von Antihistaminika in höheren Dosen verschiedener chemischer Strukturen (z. B. Phentiazine, Derivate von Äthanolamin und Äthylendiamin, siehe Tab. 2) hemmen die pilocarpininduzierte Salivation der Glandula submandibularis bei Hunden. Der stärkste Antagonist war Promethazin. Seit es bekannt ist, daß Antihistaminika andere Wirkungen haben, die für die Hemmung verantwortlich sein können, wurden einige dieser Effekte verschiedener Antihistaminika am isolierten Meerschweinchendarm untersucht. Aus den Ergebnissen konnte gefolgert werden, daß jedes der untersuchten Antihistaminika eine mehr oder weniger starke Hemmwirkung zu Acetylcholin, Serotonin und Bradykinin hat (WERLE und LORENZ, 1970). Vergleicht man die hemmende Wirkung von Antihistaminika auf die pilocarpin-induzierte Speichelsekretion mit derjenigen auf die Kontraktion des isolierten Meerschweinchenileums durch Histamin, Acetylcholin, Serotonin und Bradykinin, findet man eine signifikante Beziehung nur im Falle des Histamins (LORENZ et al., 1968, 1969).

Es ergab sich, daß die Hemmwirkung der Antihistaminika bei der Speichelsekretion mit ihrer antihistaminischen Wirkung am Darm, nicht aber mit ihrer parasympathikolytischen Wirkung parallel geht. Daher erscheint es wahrscheinlich, daß die Antihistaminika die pilocarpin-induzierte Speichelsekretion in einer spezifischen Art hemmen, d. h. durch Hemmung des freigesetzten Histamins in der Glandula submandibularis.

Tab. 2: Hemmung der pilocarpin-induzierten Salivation der Glandula submandibularis bei Hunden durch verschiedene Antihistaminika

No.	Substanz	ID (mg/kg) 50	x mal wirksamer als Antazolin
1	Promethazin	0.05	24
2	Piprinhydrinat	0.05	24
3	Meclastin	0.10	12
4	Bamipin	0.18	7
5	Isothipentylhydrochl.	0.20	6
6	Alimemazin	0.22	6
7	Dimethindenmaleat	0.25	5
8	Hö 469 (Bayer)	0.30	4
9	Hö 505 (Bayer)	0.40	3
10	Bromophiniraminmaleat	0.50	2
11	Pheniramin p-aminosal.	0.80	2
12	Tolpropaminhydrochl.	0.75	2
13	Doxylaminsuccinat	0.75	2
14	Diphenyldraminhydrochl.	0.80	2
15	Hö 467 (Bayer)	0.90	1
16	Antazolin	1.20	1
17	Meclozin	1.60	0.75
18	Hö 482 (Bayer)	1.60	0.75
19	Tripelennamin	1.60	0.75
20	(Adepzolon ^R) WV 761	2.0	0.60
21	p-bromotripelennam.	3.0	0.40

Anwendung von Pilocarpin sofort nach i.a.-Injektion des Antihistaminikums.

Auch die durch Acetylcholin und Physiostigmin verursachte Speichelsekretion kann in gleichem Maße durch die angewendeten Antihistaminika gehemmt werden (LORENZ et al., 1967, LORENZ u. WERLE, 1969, LORENZ et al., 1968b).

Gegen die Annahme einer lokalen Schädigung des sezernierenden Parenchyms, wie einige Autoren vermuten, spricht u. a. der Befund der sehr kurzen Wirkungsdauer der Antihistaminika: injizierte man nach einer 25-minütigen pilocarpin-induzierten Sekretionsperiode ein zweites Mal Pilocarpin mit einem Antihistaminikum zusammen, so ergab sich nach weiteren 25 Minuten durch eine wiederholte, alleinige Pilocarpinverabreichung bereits wieder eine normale Ansprechbarkeit der Drüse (LORENZ et al., 1968).

Gleiche Verhältnisse treffen für die Katze zu.

B. Magensaftsekretion:

B.1. Vorkommen von Histamin:

Histamin kommt in der Magenwand vieler untersuchter Säugetiere und einiger Kaltblüter (WRIGHT und TRETHERWIC, 1956) in hoher Konzentration vor. Histamin findet sich in der Schleimhaut, in oder in der Nähe der Belegzellen (WERLE und LORENZ, 1964; PLENK, 1932; HÅKANSON and OWMAN, 1966; HAEGER and KAHLSON, 1952). So ist bei Mensch, Hund und Katze die Histaminkonzentration in der Corpusschleimhaut am höchsten (FELDBERG and HARRIS, 1953; LORENZ, Diss., 1965).

Weiterhin läßt sich Histamin in oder in der Nähe mukoider Drüsenzellen finden. Beim Meerschweinchen und Schwein, manchmal auch beim Menschen (CODE, 1966), kommt Histamin in der Pylorusschleimhaut in ebenso hohen Konzentrationen wie in Corpus und Fundus vor (FELDBERG and HARRIS, 1953), aber auch im Duodenum im Bereich der Brunner'schen Drüsen (FELDBERG and HARRIS, 1953). Im Antrum fand LORENZ bei Mensch und vielen

Säugetieren Histamin in relativ hohen Konzentrationen zusammen mit der Histidindecaboxylase (LORENZ et al., 1969, 1969a und b; LORENZ, 1969; LORENZ und WERLE, 1969).

Das Histamin ist in den Mastzellen der Magenwand lokalisiert. Hinsichtlich des Mastzellgehaltes im Verdauungstrakt bestehen große Speziesunterschiede (SELYE, 1965). Das Mastzellhistamin gilt als organunspezifisch, während das übrige Histamin des Magens als organspezifisch bezeichnet wird. Beide sind jedoch schwierig und nur unvollkommen voneinander abzutrennen.

Bei Mastocytose des Magen-Darm-Traktes ist beim Menschen der Histamingehalt von biotischem Material des Magens stark erhöht. Dieser Befund spricht neben vielen anderen für eine Lokalisation von Histamin in den Mastzellen der Magenwand (JANUM and ZACHARIAE, 1967).

Endlich findet sich gespeichertes Histamin auch in den enterochromaffinen Zellen, in der Wand kleiner Gefäße und wahrscheinlich in Nervenfasern. Enterochromaffine Zellen kommen in der Magenschleimhaut je nach Spezies in verschiedener Dichte vor. Neben Serotonin und Kallikrein wurde in ihnen autoradiographisch und fluoreszenzmikroskopisch Histamin nachgewiesen, allerdings nur bei Ratten, Mäusen und Hamstern (WEINSHELBAUM and FERGUSON, 1966; RESNICK and ORKY, 1961; HÄKANSON et al., 1967).

B.2. Stoffwechsel von Histamin im Magen:

Histamin entsteht im Säugetierorganismus durch Decarboxylierung von L-Histidin. Katalysatoren sind Histidindecaboxylasen; eine spezifische, die nur L-Histidin umsetzt und eine unspezifische, die alle natürlich vorkommenden aromatischen Aminosäuren umsetzen soll (WEISSBACH et al., 1961). Von SCHAYER (1965) wurde jedoch in der Meerschweincheniere eine starke Histaminbildung durch diese in vivo nachgewiesen. Hohe Aktivitäten der spezifischen Histidindecaboxylase wurden in der Magenschleimhaut von Affen, Schweinen, Kühen, Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen, Ratten und beim Menschen gefunden (LORENZ et al., 1969). Auch in menschlichen Magencarcinomen wurde sie

gefunden. Die schnellste Histaminbildung wurde in der Fundus- und Corpusgegend gemessen, wo die größte Dichte der säurebildenden Parietalzellen gezeigt werden konnte. Aber auch im Antrum wurde Aktivität gemessen. Die höchsten Aktivitäten fand man in Fundus und Corpus des Schweines.

Bei Kaninchen, Ratte und Rind konnten Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidindecaboxylase gezeigt werden. Auch nimmt man die Existenz von Isoenzymen an, die entweder zum spezifischen oder unspezifischen Typ der Decarboxylase gehören (WEISSBACH et al., 1961; LORENZ et al., 1969). HÅKANSON und OWMAN (1966) bzw. LORENZ et al. (1967) fanden auch im Pylorus des Ratten- und Meerschweinchenmagens eine spezifische Histidindecaboxylase. Die Aktivität der gemessenen Decarboxylasen ist beträchtlich und übertrifft bei Hund, Schwein und Rind sogar die des Rattenmagens, dessen Histidindecaboxylase zu den aktivsten aller Säuger gehört.

Für die Histamininaktivierung in der Magenschleimhaut sind bisher je nach Spezies drei Enzymtypen verantwortlich zu machen: Die Diaminoxidase ließ sich bisher nur im Magen des Rindes mit nennenswerter Aktivität nachweisen. Bei Ratte (KOBAYASHI and IVY, 1959) und Hund bewegten sich die Aktivitäten im unteren Bereich der Nachweisgrenzen. Im Magen von Mensch, Schwein, Katze und Meerschweinchen konnte keine Diaminoxidase gefunden werden (BEST and MCKENRY, 1930; KOBAYASHI and IVY, 1958; KUSCHE et al., 1969). Die Diaminoxidase spielt somit bei der Inaktivierung des Histamins in der Magenschleimhaut eine sehr untergeordnete bzw. bei einigen Arten überhaupt keine Rolle.

Als wichtigstes Enzym des Histaminumsatzes bei Mensch, Hund, Katze und Maus (SCHAYER, 1956) wurde die Histaminmethyltransferase nachgewiesen, die das β -Imidazoläthylamin am Ring in Stellung 1 methyliert (BROWN et al., 1959; SCHAYER, 1959, 1966; SCHAYER and SESTOKAS, 1956; SNYDER and AXELROD, 1965). Nahezu alle Regionen der Magenschleimhaut von Mensch, Hund, Schwein und Rind weisen sehr hohe Enzymaktivitäten auf (LORENZ et al., 1970). Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß auch beim

Menschen Histamin durch die Histaminmethyltransferase sehr schnell umgesetzt wird. Die höchste Aktivität des Enzyms wurde bei allen vier erwähnten Säugerarten in der Antrum-schleimhaut gefunden und nicht in der Region mit der größten Belegzell-dichte, nämlich im Corpus, wo die niedrigste Aktivität gemessen wurde (LORENZ et al., 1970). Die Bedeutung der hohen Methylaseaktivität im Antrum kann bisher nicht erklärt werden.

Die Aktivität des dritten abbauenden Enzyms, der Diphosphopyridinnucleotidase, wurde bisher in der Magenschleimhaut nicht bestimmt. In Gegenwart eines Hemmstoffes dieses Enzyms, wie Nicotinamid, konnte aber der Histaminumsatz in der Magenschleimhaut immer wieder weitgehend verhindert werden (LORENZ und PFLEGER, 1968; BEAVEN et al., 1967). In der Magenwand der Ratte konnte Histaminribosid gemessen werden, deshalb wird angenommen, daß auch bei anderen Spezies der Histaminnucleotidbildung als Inaktivierungsweg des Histamins eine große Bedeutung zukommt.

B.3. Freisetzung von Histamin im Magen:

Bei der Freisetzung von Histamin im Magen muß unterschieden werden zwischen Histaminfreisetzung aus typischen und atypischen Mastzellen der Magenwand und aus Nichtmastzellspeichern. Hinsichtlich der Wirksamkeit (Histaminfreisetzung) durch Mastzelldegranulierung bestehen deutliche Speziesunterschiede. Seit langer Zeit sind die Tweene, insbesondere Tween 20 (Netzmittel), als Abkömmlinge von Fettsäureestern als spezifische Histaminliberatoren beim Hund bekannt. Ein chemisch verwandter Stoff ist das erst in letzter Zeit als Histaminliberator bekannt gewordene Cremophor (LORENZ et al., 1972), das als Lösungsvermittler für verschiedene Arzneimittel verwendet wird. Nach Injektion von Cremophor wurde die Sekretion eines stark sauren Magensaftes beobachtet, was neben anderen Kriterien

beweisend für eine Histaminfreisetzung war. Parallel dazu fiel bei histochemischen Untersuchungen eine Abnahme der Mastzellen in der Magenschleimhaut auf. Diese gegen 48/80 resistenten Mastzellen wurden als atypische Mastzellen bezeichnet, aus ihnen konnte Histamin bisher mit keinem der bekannten Liberatoren freigesetzt werden. Diese Befunde, daß Cremophor an typischen (z. B. der Haut) und atypischen (Darm) Mastzellen angreift, gelten jedoch bisher nur für den Hund. Die Mastzellen im Magen des Schweines sind beispielsweise gegenüber 48/80 empfindlich, im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Arten (LORENZ et al., 1971). Auch viele Antihistaminika gehören zu den mastzelldegranulierenden Substanzen!

Aus Nichtmastzellspeichern wird Histamin im Magen hauptsächlich durch Gastrin bei Mensch, Katze und Ratte liberiert. Patienten mit Inselzelladenomen, in denen Gastrin nachgewiesen wurde (DOTEVALL et al., 1963), scheiden große Histaminmengen im Urin aus, die nach Entfernung des Tumors wieder zur Norm abfallen. Bei der Ratte verringert Gastrin den Histamingehalt der Magenschleimhaut signifikant um etwa 30 % (STUBRIN et al., 1965), in der ersten halben Stunde nach der Injektion sogar bis zu 45 % (KÄHLSON et al., 1964). Histaminmengen, wie sie durch Gastrin tatsächlich freigesetzt werden, stimulieren in Abwesenheit von Gastrin die saure Magensaftsekretion. Außerdem stimuliert Gastrin die Histaminbildung, da es zu einer Erhöhung der Aktivität der Histidindecaboxylase kommt. Durch Hemmstoffe des Histaminumsatzes kann man die gastrininduzierte Magensaftsekretion verstärken, was für eine Freisetzung von Histamin spricht (LORENZ et al., 1968b; AMURE and GINSBURG, 1964). Gastrin setzt also im Magenfundus- und -corpus Histamin frei.

Auch Vagusreizung durch Scheinfütterung, Hypoglykämie und Parasympathomimetika setzen Histamin aus Nichtmastzellspeichern der Magenschleimhaut frei. Dieser Freisetzungsmechanismus

ist der gleiche wie in Speicheldrüsen. Versuche mit ^3H -markiertem Histamin ergaben, daß nach i.v. Verabreichung Histamin in solche Speicher aufgenommen wird, die durch 48/80 nicht entleert werden können, wohl aber durch parasympathischen Reiz (BRODIE et al., 1966; BEAVEN et al., 1967). Auch Acetylcholin, der physiologische Überträgerstoff an den terminalen Neuronen des Vagus, stimuliert - ebenso wie Gastrin - durch Freisetzung von Histamin die Magensaftsekretion.

Weiterhin ist seit längerer Zeit bekannt, daß Histalog bei der Ratte Histamin liberiert (STUBRIN et al., 1965). Nach LEE und JONES (1949) allerdings hat diese Substanz, die zur Stimulierung der Magensaftsekretion auch beim Menschen verwendet wird, eine direkte histaminartige Wirkung. Im Magensaft des Menschen wurde nach Histalogstimulierung Histamin in einer Konzentration von $10,2 \pm 4,9$ ng/ml nachgewiesen (LORENZ et al., 1970). Dreizehnfach höhere Histaminspiegel im Magensaft als im Blutplasma des Menschen sprechen für eine Histaminliberierung durch Histalog, wahrscheinlich aus den "atypischen" Mastzellen der Magenschleimhaut, da gegen die Annahme einer 13-fachen Konzentrierung aus dem Plasma beim Weg durch die Magenschleimhaut schon die Tatsache spricht, daß die hochaktive Histaminmethyltransferase der menschlichen Magenschleimhaut das Histamin beim Durchtritt rasch inaktivieren würde (LORENZ et al., 1969b). Bei den hohen Dosen allerdings, wie sie beim maximalen Histalogtest (2 mg/kg) zur Stimulierung der Magensaftsekretion verwendet werden, zeigt die Substanz direkte histaminartige Wirkungen und außerdem eine Potenzierung der Kinin- und Sero-toninwirkung (LORENZ et al., 1970).

B.4. Bedeutung der Freisetzung von Histamin bei der Streß-ulcuspathogenese:

Zahlreiche Untersuchungen über die Ursachen der Entstehung des gastroduodenalen Ulcus haben bis heute zu keinem eindeutigen Ergebnis geführt. Für die Pathogenese des perakuten, sogenannten Streßulcus, das im Verlauf weniger Stunden

bis zu zwei Wochen, insbesondere nach schweren Traumen und Blutverlusten, nach Verbrennungen über 15 % der Körperoberfläche und bei respiratorischer und cardialer Insuffizienz entsteht, und das u.a. durch atypische Lokalisation gekennzeichnet ist, wurden bisher vor allem ein erhöhter Vagotonus, ein erhöhter Sympathicotonus und eine vermehrte Freisetzung von adrenocorticotropem Hormon verantwortlich gemacht. Mit diesen Mechanismen konnte man jedoch u.a. nicht die Durchblutungsstörungen der Magenschleimhaut erklären, die sich in einer starken Blutfülle der Kapillaren der oberen Schleimhautschichten und in einer erhöhten Permeabilität der Kapillarewand mit Hämorrhagien äußern (GUTH and HALL, 1966). Vom Histamin weiß man, daß es die präkapillären Sphinkter erweitert und die Gefäßpermeabilität erhöht.

Daß Histamin perakute Ulcera zu erzeugen vermag, wurde von BÜCHNER und MOLLOY (1927) erstmals und danach von vielen anderen Autoren nachgewiesen. Eine Fülle tierexperimenteller Befunde spricht für eine Beteiligung des Histamin-Histidindecaboxylase-Systems an der Streßulcuspathogenese. Es soll hier nur angeführt werden, daß Streß durch Kälte oder Immobilisation des Versuchstieres zu einer auf das Mehrfache der Norm erhöhten Aktivität der Histidindecaboxylase führt (TELFORD and WESTE, 1961; SCHWARTZ et al., 1966) und daß Streß (GUTH and KOZBUR, 1968 und 1969), ACTH und Glucocorticoide (RÄSÄNEN, 1963) zu einer Degranulierung der Mastzellen in den oberflächlichen Schleimhautschichten führen.

Wie wir aber aufgrund fluoreszenzmikroskopischer Befunde wissen (HÅKANSON et al., 1969), ist Histamin in der menschlichen Magenschleimhaut ausschließlich in Mastzellen lokalisiert, weiterhin wird - wie bereits oben erwähnt - Histamin in der menschlichen Magenschleimhaut aus Histidin durch eine sehr aktive, saure Histidindecaboxylase gebildet (LORENZ et al., 1969). Daher ist es möglich, daß die Histaminfreisetzung bei der Streßulcuspathogenese eine Rolle spielt.

B.5. Fehlende Hemmbarkeit der Magensaftsekretion durch Antihistaminika:

Nach der umfassenden Übersicht von IVY und BACHRACH (1966) heben Antihistaminika bei Mensch, Hund, Katze, Maus und Meerschweinchen zwar die Blutdrucksenkung und Kontraktion der glatten Muskulatur durch Histamin auf, nicht aber die Stimulierung der Magensaftsekretion durch Histamin. Die Antihistaminika, die interessanterweise zu den mastzelldegranulierenden Substanzen gehören (MOTA, 1966; LINDE, 1950), zeigen deutliche Artbesonderheiten: vor allem bei Mensch, Hund und Katze stimulieren sie sogar bei oraler und parenteraler Verabreichung die histamininduzierte Magensaftsekretion (IVY und BACHRACH, 1966).

Den wenigen Befunden, die für eine Hemmung der Magensaftsekretion durch Antihistaminika sprechen, liegt die Annahme einer unspezifischen Sekretionshemmung durch Schleimhautschädigung zugrunde (RAGINS et al., 1958; BLAIR and FOREST, 1960). Nach LINDE (1949) hemmt Antistindauerinfusion die histamininduzierte Magensekretion beim Hund, wenn es mit einem Netzmittel, wie z. B. Tween 20, verabreicht wird.

Es soll auch erwähnt werden, daß die histamin- und pilocarpin-induzierte Magensaftsekretion sowie die normale Dauersekretion der anaesthetisierten Shay-Ratte durch Phloxin gehemmt werden. Seine antihistaminischen Eigenschaften wurden am Darm festgestellt. Bei der Hemmwirkung auf die Magensaftsekretion durch Phloxin konnte gezeigt werden, daß diese keine Folge einer Schädigung der salzsäurebildenden Zellen ist. Versuche mit Phloxin wurden bisher nur bei der Ratte vorgenommen; sie ergaben eine spezifische Hemmung der Magensaftsekretion durch dieses Antihistaminikum (NOORDWIJK and AARSEN, 1954). So kann man abschließend sagen, daß die Wirkung der Antihistaminika auf die Magensaftsekretion noch nicht befriedigend geklärt ist.

III. Z I E L D E R A R B E I T :

1. Chemische Identifizierung von Histamin im Speichel und Erarbeitung einer Methode zur Bestimmung von Histamin im Speichel:

Als eine der Hauptschwierigkeiten bei der Verfolgung dieses Zieles erwies sich die Messung von Histamin im Speichel, allgemein ausgedrückt, die Histaminmessung in Körperflüssigkeiten mit niedriger Histaminkonzentration. Da man bisher in verschiedenen Körperflüssigkeiten sowohl einundderselben Spezies, als auch verschiedener Tiere, bei Reinigung durch verschiedene Isolationsverfahren widersprüchliche Werte erhielt, mußten hier drei unterschiedliche Reinigungsverfahren durchgeführt und miteinander verglichen werden. Es mußte das für Speichel spezifische Verfahren erarbeitet werden. Die im Speichel gemessenen "Histamin-Äquivalente" mußten anschließend durch Identifizierung der isolierten Substanz als wahres Histamin bewiesen werden.

2. Messung von Histamin im Speichel nach Stimulierung mit Pilocarpin und Acetylcholin bei Katze und Hund:

Die Bestimmung der Histaminkonzentration erfolgte aus Speichel, der nach Stimulierung der Glandulae submandibularis und - parotis bei Hund und Katze gewonnen wurde.

3. Der Versuch, den Abbau von freigesetztem Histamin in Speicheldrüsen, Magen und Pankreas durch Amodiaquin zu hemmen:

Hierbei wurde von der Vorstellung ausgegangen, daß der Histaminabbau durch Hemmung des abbauenden Enzyms, der Histaminmethyltransferase, zu hemmen sein müsse. Da die wirksamsten Hemmstoffe der Methyltransferase einige Antimalariamittel sind, wurde der Effekt von Amodiaquin auf die pentagastrin-induzierte Magensaftsekretion sowie die Wirkung auf die zuvor

stimulierte Speichel-, Galle- und Pankreassekretion untersucht.

4. Rolle der Histaminfreisetzung bei der Streßulcus-pathogenese bei männlichen Ratten:

Da der hohe Histamingehalt in der Magenschleimhaut der meisten Spezies, seine sekretorische Wirkung sowie seine vasoaktiven Eigenschaften die Vermutung einer Beteiligung dieses biogenen Amins bei der Pathogenese streßbedingter, akuter gastroduodenaler Ulcera nahelegen, und da Parallelen zwischen dem Histaminabbau beim Menschen und bei männlichen Ratten bestehen, sollte dieser Frage anhand von Versuchen mit männlichen Ratten nachgegangen werden.

IV. M E T H O D I K :

A. Versuchstiere:

Die Speichelsekretionsstudien wurden an etwa fünfundzwanzig sechs bis zehn Jahre alten und 14 - 34 kg schweren Schäferhundbastarden durchgeführt. Die Tiere wurden in Nembutalnarkose intubiert und atmeten während des Versuches spontan. Ringer-Laktat-Lösung wurde infundiert; der Urin über einen Blasenkatheeter gesammelt.

Die Magensekretionsstudien wurden an sechs Bastardhunden mit einem Körpergewicht von 14 - 30 kg mit Heidenhain-Taschen nach der Methode von EMAS et al. durchgeführt. Sechs Wochen nach der Operation wurde mit den Sekretionstesten begonnen, die über zehn Monate zweimal wöchentlich, am selben Tag der Woche, zur gleichen Tageszeit, im gleichen Raum, erfolgten.

Bei den Streßulcusversuchen handelte es sich um männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Körpergewicht von 200 - 350 g, gezüchtet in der medizinischen Versuchstierzuchthandlung in Wolfratshausen/München. Die Tiere waren in großen Käfigen in Gruppen von fünf bis zehn Tieren untergebracht. Es wurde ausschließlich Altromin als Futter verabreicht. Die Raumtemperatur wurde zwischen 22° und 24° C konstant gehalten. Die Ratten waren vor Beginn des Versuches 48 Stunden ohne Futter. Die Versuche wurden in Normothermie (22° C Raumtemperatur) und in Hypothermie im Kühlraum (bei einer Temperatur von 5° C) durchgeführt. Nach Beendigung des Versuches erfolgte jeweils die Kontrolle der Colontemperatur, um auch hier möglichst konstante Bedingungen zu erhalten. Die Bewertung des Magenbefundes erfolgte unmittelbar nach Tötung im Ätherrausch.

B. Material:

Histamin-Dihydrochlorid puriss., O-phthaldialdehyd p.a. (umkristallisiert von Petroläther p.a., S.P. 40 - 60°) (Fluka); Methanol, Heptan (Lösungen für die Dünnschichtchromatographie) (Riedel de Haen); Dowex 50 WX-8 H⁺, mesh 200 - 400 (Serva,

Heidelberg); Zellulose MN 300 für Dünnschichtchromatographie (Macheray, Nagel und Co.); Dimetinden Maleat (Fenistil^R) (Zyma-Blaes); Antazolin (Antistin^R, Ciba); Acetylcholin (Hoffmann-La-Roche); Polymyxin B (Pfizer, Karlsruhe); Secretin (Boots Pure Drug and Co. Ltd.); Betazol-Dihydrochlorid (Histalog^R, Lilly); Natrium-Pentobarbital (Nembutal^R, Abbott); es wurde nur aqua bidest. verwendet.

C. Isolation von Histamin aus Geweben und Speichel zur fluorometrischen Bestimmung:

Für die Bestimmung des Speichelhistamins wurden 6 ml Speichel und 2 ml 2N HClO₄ im Verhältnis 3 : 1 gemischt und anschließend 10 min lang bei 1800 g zentrifugiert. Für die weitere Bestimmung wurden 4 ml des Überstandes verwendet.

C.1. Histaminbestimmung durch Kation-Austausch-Chromatographie mit Dowex 50 (Dowex-Methode):

4.0 ml des mit Perchlorsäure behandelten Überstandes wurden unter Benutzung einer Glaselektrode auf einen pH-Wert von 6,5 mit 2N NaOH eingestellt und anschließend auf eine Säule mit Dowex 50 WX-8 (0.3 x 2.0 cm äquilibriert mit 0.1 M Phosphatpuffer, pH 6.5) aufgetragen. Die Säule wurde nacheinander gewaschen mit 5.0 ml 1 M Phosphatpuffer, pH 6,5; 1.0 ml aqua bidest. und 5,0 ml 1N HCl. Das Histamin wurde mit 3,0 ml 4N HCl eluiert. Für die fluorometrische Bestimmung des Amins wurde das Eluat mit gleicher Menge bidestilliertem Wasser verdünnt. 1,7 ml dieser Lösung wurden mit 0,8 ml 5N NaOH und 0,1 ml Orthophthaldialdehyd (0,1 % w/v, in Methanol) gemischt. Genau 2 min später wurden 0,6 ml 2M H₃PO₄ hinzugefügt und die Fluoreszenz mit einem Zeiss Spektrofluorometer bei einer Temperatur von $21 \pm 0,5^{\circ}$ C gemessen. Die Anregungswellenlänge betrug 360 nm, die Fluoreszenzwellenlänge 450 nm. Die Fluoreszenz blieb für etwa eine Stunde stabil. Die Fluoreszenz-Intensität war der Histaminkonzentration direkt proportional in einem

Bereich von 1 - 700 ng Histamin-Dihydrochlorid/ml verdünntem Eluat. Die Ausbeute an Histamin betrug 95 - 100 %, Variationskoeffizient 4,2 % (n = 18).

C.2. Histaminbestimmung mittels Butanolextraktion
(Shore-Methode, SHORE et al., 1959):

4.0 ml des Perchlorsäureextraktes (s.o.) wurden mittels einer Glaselektrode mit 5N NaOH auf einen pH-Wert von 11,5 - 12,0 eingestellt und 20 min lang in einem 25 ml-Erlenmeyerkolben zusammen mit 1,5 g NaCl und 10,0 ml Butanol geschüttelt. Die organische Phase wurde mit 0,1N NaOH, gesättigt mit NaCl, gewaschen. Histamin wurde in die wässrige Phase (0,1N HCl) mit Hilfe von Heptan zurückgeschüttelt. Nach Kondensation des Histamins mit O-phthaldialdehyd wurde das fluoreszierende Kondensat mit 3N HCl, anstatt 2M H_3PO_4 - wie oben beschrieben - stabilisiert. Die Ausbeute an Histamin betrug 75 - 85 %, Variationskoeffizient 4 % (n = 10).

C.3. Histaminbestimmung durch Kationen-Austausch-
Chromatographie an Dowex 50, gefolgt von Buta-
nolextraktion (kombinierte Methode):

4.0 ml des Perchlorsäureextraktes wurden auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellt, und Histamin wurde durch Kationen-Austausch-Chromatographie - wie oben beschrieben - isoliert. Das unverdünnte Eluat der Säule wurde mit 0,1N NaOH auf einen pH-Wert von 11,5 - 12,0 eingestellt und mit alkalischem Butanol ausgeschüttelt. Die weitere Verarbeitung geschah, wie oben beschrieben. Ausbeute an Histamin: 65 - 75 %, Variationskoeffizient 5,2 % (n = 10).

C.4. Isolierung von Histamin durch eine modifizierte
kombinierte Methode zur chemischen Identifizierung:

Die Perchlorsäureextrakte von 600 - 900 ml Hundespeichel (s.o.) wurden mit 2N NaOH auf einen pH-Wert von 6,5 mittels einer Glaselektrode eingestellt und über ungefähr 50 Säul-

chen mit Dowex 50 W-X 8 (10,0 ml des neutralisierten Extraktes wurden auf jede Säule aufgetragen) verteilt. Nach Kationenaustausch-Chromatographie wurden die unverdünnten Eluate gesammelt und mit einem Vacuum-Rotationsverdampfer (Rotavapor-R. Büchi) bis zur Trockene, bei einer Temperatur des Wasserbades von 35° C, eingedampft. Der Rückstand wurde in 4,0 ml aqua bidest. gelöst, mit 5N NaOH auf einen pH-Wert von 11,5 - 12,0 eingestellt und in einem 25 ml-Erlenmeyerkolben zusammen mit 10,0 ml Butanol (ohne Hinzufügen von NaCl, bis zur Salzsättigung) 20 min lang geschüttelt. Nach dem Waschen der organischen Phase mit 5,0 ml salzsättigter 0,1N NaOH mußte Histamin in die wässrige Phase unter Hinzufügen von 15,0 ml Heptan zurückgeführt werden (in 2,5 ml 0,1N HCl). Diese Lösung wurde für die Identifizierung von Histamin mittels Dünnschichtchromatographie und nach Neutralisation mit 0,1N NaOH für die Identifizierung durch enzymatischen Abbau benutzt. Ausbeute an Histamin nach der präparativen Methode: 55 - 60 % (n = 7).

D. Methode der Identifizierung:

D.1. Spektrum-Vergleich:

Die Anregungs- und Fluoreszenzspektren der isolierten Substanz und diejenigen des authentischen Histamins wurden auf einem Zeiss-Spectrofluorometer verglichen. Die Wellenlängen wurden manuell eingestellt bzw. verändert und im Abstand von 5 nm abgelesen und verglichen.

D.2. Abbau durch Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase:

Es wurden die Inaktivierungsgeschwindigkeiten durch 165-fach angereicherte Erbsen-Diaminoxidase und 120-fach angereicherte Histaminmethyltransferase aus Schweineantrum für Standardhistamin und die aus dem Speichel isolierte Substanz verglichen. Diaminoxidas von Erbsen, die einen hohen Enzymgehalt besitzen (WERLE und HARTUNG, 1956), die nach der Methode von WERLE et al. (1961) und modifiziert nach der Methode von WERLE und SCHIRREN (1965) und KUSCHE (1970) gereinigt

worden waren, wurde zum Abbau benutzt. Die Konzentration der aus dem Speichel isolierten Substanz wurde fluorometrisch als "Histaminäquivalent" bestimmt. Standardhistamin wurde in gleicher Konzentration in 0,1N HCl gelöst. Nachdem beide Lösungen mit gleichem Volumen 0,1N NaOH neutralisiert waren, wurden Standardhistamin und die isolierte Substanz mit gereinigter Diaminoxidase inkubiert. In einem Schüttelinkubator (H-350, Gallenkamp, London) bei 25° C und Luftatmosphäre.

Die Inkubationslösung enthielt 0,25 ml der Histamin- bzw. Histaminäquivalentlösung, 0,55 ml 0,2M Phosphatpuffer, pH 7,4; und 0,2 ml Diaminoxidaselösung (0,1 E gelöst in 0,2M Phosphatpuffer, pH 7,4).

Die Reaktion wurde in den verschiedenen Inkubationsproben nach 3, 6 und 12 Minuten durch das Hinzufügen von 0,25 ml 2N HClO₄ gestoppt. Nach fünfminütigem Zentrifugieren bei 1800 g wurden 1,0 ml des Überstandes mit einer Glaselektrode auf einen pH-Wert von 6,5 mit 0,1M Phosphatpuffer, pH 6,5, eingestellt. Das restliche Histaminäquivalent wurde durch Chromatographie an Dowex 50 isoliert - wie oben beschrieben - und anschließend fluorimetrisch bestimmt. Inkubationsproben, die durch Perchlorsäure inaktiviertes Enzym enthielten, wurden als Nullwerte benutzt. Die isolierte Substanz und Standardhistamin wurden als identisch betrachtet, wenn sie gleiche Inaktivierungsraten aufwiesen.

Für den Abbau durch Histaminmethyltransferase (HMT) wurde 120-fach angereichertes Enzym aus Schweineantrum mukosa verwendet. 1,0 ml der gereinigten Enzymlösung wurde zur Messung der Inaktivierungsrate von Standardhistamin und Histaminäquivalenten benutzt. Die Versuchsanordnung war gleich der oben beschriebenen (LORENZ et al., 1970).

D.3. Identifizierung durch Dünnschichtchromatographie:

Es wurde der Submandibularspeichel von 2 Hunden nach Stimulation der Drüse durch Pilocarpin (6 x 40 µg/kg i.a., s.o.)

gesammelt (LORENZ et al., 1968b). Histamin wurde nach der modifizierten, kombinierten Methode isoliert (LORENZ et al., 1971). Authentisches Histamin, die isolierte Substanz und ein Gemisch aus authentischem Histamin und isolierter Substanz wurden in definierten Konzentrationen auf eine Dünnschichtplatte mit MN-Zellulose (0,25 mm, Glasplatten 20 x 20 cm) aufgetragen und liefen in sechs verschiedenen Lösungsgemischen (s. Tab. 3). Die Histaminflecken wurden nach Besprühen der Platten mit 2N NaOH, gefolgt von o-Phthaldialdehyd (0,1 % in Methanol), sichtbar. Innerhalb 3 - 4 Minuten erschien eine bläuliche Fluoreszenz, die nach Anregung mit 366 nm mit einer UV-Lampe (Desage-Uvis) sichtbar war. Die hohe Empfindlichkeit dieser Methode erlaubt die Sichtbarmachung von Histamin in Werten bis um 20 ng. Die RF-Werte der isolierten Substanz wurden mit denjenigen des Standardhistamins und denjenigen einer Mischung aus diesen beiden Substanzen auf derselben Platte verglichen.

E. Versuchstechnik:

E.1. Heidenhain-pouch:

Es wurden an sechs Bastardhunden nach der Methode von EMAS et al. (1967) Heidenhaintaschen angelegt (s. IV.A.). Zunächst wurde bei maximaler Stimulierung der Magensaftsekretion durch 6 µg/kg KG Pentagastrin s.c. oder 40 µg/kg KG Histamin das Sekretionsniveau der Tasche ermittelt. Das Sekretionsniveau wurde als stabil angesehen, wenn mindestens drei Stimulierungen mit einer Abweichung von $\pm 5\%$ zu gleichen Volumina und Säuremengen führten. Dann folgte auf einen Test mit Pentagastrin allein ein Test mit Amodiaquin und Pentagastrin und darauf wiederum ein Test mit Pentagastrin allein. Mit Histamin wurde auf dieselbe Weise verfahren. Amodiaquin wurde intramuskulär 30 min vor der Injektion des Stimulans verabreicht. Der sezernierte

Magensaft wurde in halbstündigen Abständen über zwei Stunden gesammelt. Die Säuremengen wurden durch Titration mit 0,1N NaOH bis pH 7,0 mit einem pH-Meter ermittelt. Folgende Kontrollen wurden durchgeführt:

1. durch Variation der Dosis des Stimulans nach oben und unten wurde die Konstanz des Sekretionsniveaus festgestellt.
2. Durch einen Insulintest 4 - 6 Wochen postoperativ wurde eine ausreichende parasympathische Denervierung der Tasche gesichert.
3. Der Säure-Basen-Haushalt der Hunde wurde alle zwei Monate kontrolliert und, was bei einigen Hunden nötig wurde, durch Infusionen von Elektrolytlösungen, wie Elomel B, normalisiert.

E.2. Speichelfistel:

Bei ca. fünfundzwanzig narkotisierten, verschieden schweren Schäferhundbastarden (s. IV.A.) wurden die Ausführungsgänge der Glandulae submandibularis und Parotis mit einem Polyäthylenkatheter kanüliert, um so den Speichel zu gewinnen (WERLE und LORENZ, 1966). Die Sialagoga wurden mittels eines zweiten Katheters in die Arteria maxillaris externa injiziert (LORENZ et al., 1968b). Es wurde beispielsweise eine submaximale Pilocarpindosis von 40 µg/kg KG injiziert, die eine Speichelsekretion von ca. 25 min Dauer induzierte. Nach 5 - 10-minütiger Pause, in der Basalsekretion erfolgte, wurde erneut das Sialagogum injiziert.

E.3. Pankreas- und Gallefistel:

Bei sechs Hunden wurde der Effekt von Amodiaquin auf die Pankreas- und Gallesekretion untersucht. Bei den narkotisierten Tieren wurde der ductus pankreaticus minor unmittelbar vor der papilla duodeni accessoria mit einem Polyäthylenkatheter kanüliert. Ein ductus pankreaticus maior und weitere akzessorische Pankreasgänge wurden unterbunden. Der

Magen wurde am Pylorus durch eine Ligatur verschlossen, die Galle wurde durch Kanülierung des ductus choledochus abgeleitet.

Secretin (1E/kg KG) und Amodiaquin wurden intraarteriell in die Arteria pancreatico-duodenalis injiziert. Amodiaquin wurde wechselnd 5 - 30 min vor Secretin injiziert.

E.4. Streßulcustechnik:

Als Vorversuch wurde die Säuresekretion im Rattenmagen nach Pylorusligatur (Shay-Präparation) gewählt. Vor Versuchsbeginn fasteten die Tiere 48 Stunden, nur Wasser war erlaubt. Zur Beeinflussung des Histaminstoffwechsels wurden die Tiere vorbehandelt mit

1. Aminoguanidinsulfat i.p., einem Hemmstoff des Histamin abbauenden Enzyms Diaminoxidase.
2. Thiamazol, einem Thyreostaticum (Favistan^R), dessen hemmende Wirkung auf die Histidindecaboxylase von LORENZ et al. (1968) nachgewiesen wurde.
3. Heparinoid "Bayer", das Histaminase freisetzt bzw. dessen Komplexbildung mit Histamin diskutiert wird.
4. Polymyxin B, einem starken Histaminliberator.

Als Streßmodelle kamen eine 6-stündige Immobilisation (Gipsmanschette) in Normothermie und eine 2-stündige Immobilisation in Hypothermie zur Anwendung. Zu jeder Gruppe gehörten Kontrolltiere, die 1,0 ml 0,9 %ige NaCl-Lösung i.p. erhielten. Sämtliche Substanzen wurden intraperitoneal injiziert. Die Bewertung der Magenbefunde erfolgte nach Beendigung der Streßdauer, nach Tötung der Tiere im Ätherrausch, makroskopisch und histologisch. In einer bestimmten Anzahl von Fällen erfolgte sofort nach der Tötung Blutentnahme zur Histaminbestimmung.

F. Statistik:

Die statistische Signifikanz der Ergebnisse wurde mit dem Student's-t-Test für unpaare Daten und in verschiedenen Fällen auch für gepaarte Daten berechnet (SNEDECOR und COCHRAN, 1967). Ein Olivetti electronic Computer, Programma 101, wurde für diese Kalkulation benutzt. Alle Histaminwerte wurden in Histamindihydrochlorid ausgedrückt.

V. ERGEBNISSE:

1. Chemische Identifizierung von Histamin im Speichel:

a) Vergleich von drei Isolierungsmethoden:

Wie schon von vielen anderen Körperflüssigkeiten des Hundes bekannt war, fanden sich auch bei der Bestimmung von Histamin im Speichel des Hundes nach den drei oben beschriebenen Isolationsverfahren widersprüchliche Werte. Wurde die Originalmethode nach SHORE (Butanolextraktion) benutzt, ergaben sich bei der Glandula submandibularis höhere und bei der - parotis niedrigere Werte als nach der Chromatographie über Dowex 50. Nach Kationen-Austausch-Chromatographie mit anschließender alkalischer Butanolextraktion aber wurden signifikant erniedrigte Werte gefunden (s. Tab. 3). Die Identifizierung nach den verschiedenen Verfahren ergab, daß die nach der kombinierten Methode fluorometrisch gemessenen Histamin-"Äquivalent"-werte tatsächlich nur Histamin waren, was sich aus laufenden Kontrollen mit authentischem Histamin ergab.

Das geeignete Isolationsverfahren für Histamin aus dem Hundespeichel ist also die kombinierte Methode, da während dieses Prozesses störende Substanzen (z. B. Spermidin) ausreichend von Histamin getrennt werden.

b) Fotographie einer Dünnschichtplatte:

Die Behandlung der Platte erfolgte, wie oben beschrieben. Danach konnten fünf fluoreszierende Flecke beobachtet werden, aus denen hervorging, daß die aus dem Speichel isolierte Substanz mit authentischem Histamin identisch war, daß also tatsächlich Histamin isoliert worden war (s. Abb. 1).

Tab. 3: Vergleich dreier verschiedener Isolations-
verfahren für Speichelhistamin (Näheres s. Text)

Histaminkonzentration (ng/ml)				
	n	Butanolex- traktion	chromatographische M e t h o d e	kombinierte
G1. submandib.	25	15.2 $\pm$ 5.0	14.0 $\pm$ 5.6	9.6 $\pm$ 4.3

G1. parotis	25	13.1 $\pm$ 5.2	16.1 $\pm$ 4.6	8.9 $\pm$ 4.8

n = Anzahl der getesteten Hunde				

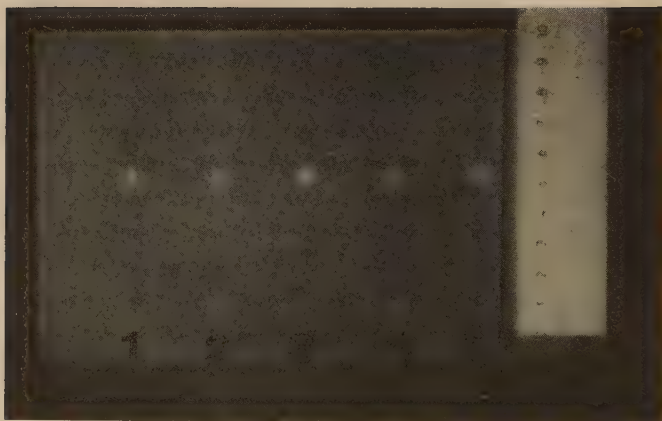


Abb. 1: Photographie einer Dünnschichtplatte (aufgenommen mit einer Polaroid-Kamera, 26'', 1' bel., Bl. 4,5; Filter gelb-mittel, UV 350 nm). Platte mit Zellulose MN-300 beschichtet; Foto nach Chromatographie von authent. Histamin u. der aus Hundespeichel isolierten Substanz, die als Histamin identifiziert wurde.

Auf diesem Foto wird das Ergebnis nach Chromatographie in dem Lösungsgemisch Äthanol-Diäthyläther-Ammoniak (25 %)-Wasser (s. Tab. 4) gezeigt. Behandlung der Platte wie beschrieben. Es könnten dann 5 fluoreszierende Flecke beobachtet werden: 1 = auth. Histamin, 2 = isol. Substanz, 3 = Mischung aus 1 u. 2. Die Flecke 4 u. 5 zeigten noch einmal isol. Subst. u. auth. Histamin in höheren Konzentrationen als 1 u. 2.

c) Tabelle über RF-Werte:

Die Tabelle zeigt das Ergebnis der Dünnschichtchromatographie. Authentisches Histamin, aus Speichel isolierte Substanz und das Gemisch beider haben gleiche RF-Werte und dürfen deshalb als identisch angesehen werden. Damit war gesichert, daß die aus dem Hundespeichel nach dem kombinierten Reinigungsverfahren isolierte und fluorometrisch gemessene Substanz Histamin war und keine andere mit o-Phthaldialdehyd reagierende Substanz (Tab. 4).

d) Diaminoxidase- und Histaminmethyltransferase-Abbaugeschwindigkeiten:

Unter Benutzung gereinigter Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase zeigten sich identische Inaktivierungsarten bei authentischem Histamin und der aus Speichel isolierten Substanz. Nach einer Inkubationszeit von 30 min verstoffwechselte die HMT fast 100 % beider Substanzen, die Diaminoxidase setzte nahezu 80 % um. Damit war zum zweiten Male die aus Speichel isolierte Substanz mit authentischem Histamin identisch (s. Tab. 5).

e) Spektrum:

Die Anregungs- und Fluoreszenzspektren der aus Speichel isolierten Substanz und authentischem Histamin zeigten sich ebenfalls identisch. Beide Substanzen wurden in gleichen Konzentrationen benutzt (20 ng Histamin/ml 0,1N HCl in Bezug auf die Histaminkonzentration während des Reinigungsverfahrens) (s. Abb. 2).

Tab. 4: RF-Werte der Dünnschichtchromatographie.
Die Tabelle zeigt Mittelwerte von 2 - 4
Bestimmungen

Lösungsmittel (v/v)	Authentisches Histamin	Isolierte Substanz	Isol. Substanz + authent. Histam.
Äthanol-Ammoniak (25%)-Wasser (100:10:10)	0.56	0.55	0.56
Äthanol-Diäthyl-Äther Ammoniak (25%)-Wasser (48:60:6:12)	0.49	0.49	0.50
n-Propanol-Ammoniak (25%) (80:20)	0.28	0.27	0.26
n-Butanol-Pyridin Wasser (40:40:40)	0.20	0.21	0.22
n-Butanol-Essigsäure Wasser (50:12.5:62.5)	0.1	0.1	0.1
n-Butanol, mit N HCl gesättigt	0.03	0.03	0.03

Authentisches Histamin, aus Speichel isolierte Substanz und das Gemisch beider haben gleiche RF-Werte und dürfen deshalb als identisch angesehen werden (s. Text).

Tab. 5: Vergleich der Abbaugeschwindigkeiten von
authentischem Histamin und isolierter Substanz
durch Histaminmethyltransferase und Diamin-
oxydase (s. Text).

Inkubations- zeit (min)	HMT (pMol) Isolierte Substanz	(pMol) Authentisches Histamin	DAO (pMol) Isolierte Substanz	(pMol) Authentisches Histamin
0	216	219	135	142
10	142	147	46	48
20	59	72	31	34
30	0	8	29	32

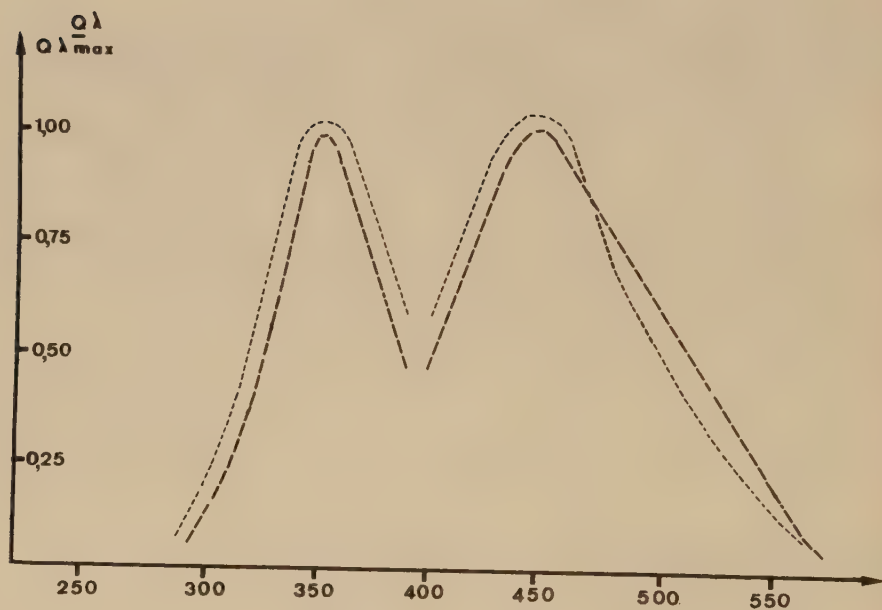


Abb. 2: Anregungs- und Fluoreszenzspektren von
authentischem Histamin und aus Speichel
isolierter Substanz.

2. Messung von Histamin im Speichel:

Nach Stimulation der Glandulae submandibularis und parotis des Hundes durch Pilocarpin ($40 \mu\text{g}$ pro kg Körpergewicht) betrug die Histaminkonzentration im Submandibularisspeichel $9,0 \pm 4,3$ ng pro ml und im Parotisspeichel $8,9 \pm 4,8$ ng/ml. Diese Werte sind Durchschnittswerte, die bei 25 Hunden gewonnen wurden. Der niedrigste Histamingehalt war $3,3$ ng/ml, der höchste $20,6$ ng/ml (Submandibularis). Bei fünf dieser Hunde wurde die Plasmahistaminkonzentration fluorometrisch nach der Methode von LORENZ et al. (1971) für Menschenplasma gemessen, wobei sich Werte von $1,0 \pm 0,42$ ng/ml ergaben. Dieser Wert ist weit niedriger als bei anderen Autoren berichtet (EMMELIN, 1945; Mac INTOSH and PATON, 1949; THOMPSON and WALTON, 1969).

Wenn man die Histaminkonzentrationen des Speichels mit denen des Plasmas vergleicht, kann man keinen Zusammenhang zwischen diesen zwei Parametern feststellen. Da der Histamingehalt des Speichels 10 mal höher als der des Plasmas ist, liegt die Annahme nahe, daß das Speichelhistamin nicht aus dem Plasma, sondern aus der Drüse kommt (WERLE und LORENZ, 1966; LORENZ et al., 1968b; LORENZ et al., 1970). Da schon BRODIE et al. (1966) und ERJAVEC et al. (1967) forderten, Histamin auch bei Katzen als Überträger der parasympathischen Stimulation der Glandula submandibularis zu betrachten, wurde auch der Histamingehalt des Katzenspeichels nach Stimulation mit Pilocarpin ($40 \mu\text{g/kg}$ KG i.a.) bestimmt. In sechs Experimenten wird 10 ng Histamin/ml Speichel gefunden.

Bei Katzen wie bei Hunden liegt der Plasmahistamingehalt nur bei $1,0$ ng/ml (BLAIR, 1966), die Histaminkonzentration im Speichel ist also über 10 mal höher als im Plasma.

Nach i.a. Injektion von $40 \mu\text{g/kg}$ KG Acetylcholin bei Hunden, gemäß der oben beschriebenen Methode, wurde ein Histaminge-

halt des Speichels von 6,0 ng pro ml gefunden, auch hier war die Konzentration höher als im Plasma.

3. Beeinflussung des Histaminstoffwechsels durch Amodiaquin:

a) Dosis-Wirkungskurve (s. Abb. 3) für die Steigerung der Magensaftsekretion durch Amodiaquin:

Wie schon anfangs erwähnt, ist die Histaminmethyltransferase das wichtigste Enzym im Histaminstoffwechsel der Magenschleimhaut. Wenn, wie unten die zu erörternde Hypothese besagt, Histamin im Magen durch Gastrin freigesetzt und dann durch die HMT inaktiviert wird, müßte eine Hemmung dieses Enzyms durch Amodiaquin die Pentastrin-induzierte Magensaftsekretion in vivo ansteigen lassen. Die Mittelwerte der Magensaftsekretion der Heidenhain-Taschen nach Stimulation mit 6 µg/kg KG Pentastrin betrugen 30,0 ml Magensaft pro Stunde und 3,6 mval Säureausstoß/h. Wie Abb. 3 zeigt, wurde die durch Pentastrin induzierte Magensaftsekretion durch Vorbehandlung mit verschiedenen Dosen Amodiaquin gesteigert.

2 mg/kg Amodiaquin steigerten den Säureauswurf über 60 % des Ausgangswertes, in einem Fall sogar mehr als 100 %. Eine Dosis von 3 mg/kg Amodiaquin bewirkte bei zwei Hunden eine leichte Hemmung der Magensaftsekretion, Dosen von 5 mg/kg und höher hemmten die Magensaftsekretion in allen Fällen und wurden als toxisch erachtet.

b) Abhängigkeit der Magensaftsekretionssteigerung durch Amodiaquin zu der Pentastrindosis:

Die Wirkung von Amodiaquin auf die Pentastrin-stimulierte Magensaftsekretion bei Hunden hing von der benutzten Dosis Pentastrin ab:

1. Die Wirkung war größer, wenn niedrigere Dosen Pentastrin angewendet wurden.

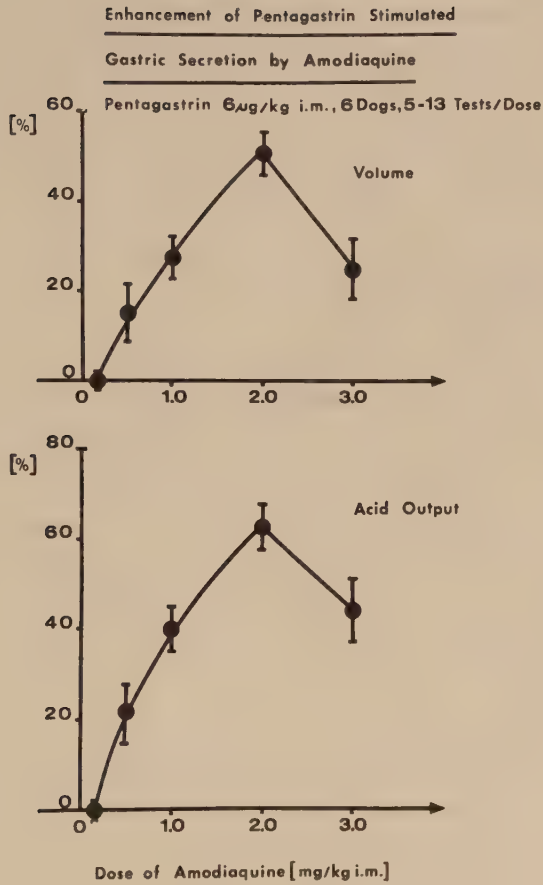


Abb. 3: Steigerung der Pentagastrin-induzierten Magensaftsekretion durch Amodiaquin (s. auch Tab. 6).

2. Höhere Dosen von Amodiaquin waren notwendig, um maximale Sekretionssteigerung hervorzurufen, wenn niedrigere Dosen Pentagastrin injiziert wurden.

Versuche mit 2 mg/kg Betazol, dem Histamin-Analogen, bei drei der Hunde, die in der Pentagastrin-Versuchsreihe standen, zeigten, daß auch die Betazol-induzierte Magensaftsekretion über 50 % nach der Injektion von Amodiaquin anstieg (s. Tab. 6).

c) Wirkung von Amodiaquin auf Speicheldrüsen, Galle und Pankreas:

Es wurde auch der Effekt von Amodiaquin auf die Speichel-, Galle- und Pankreassekretion untersucht. Die Speichelsekretion der Glandulae submandibularis, die durch 40 µg/kg Pilocarpin induziert worden war, wurde durch Amodiaquin in verschiedener Weise beeinflußt. Unter 15 Hunden zeigt nur ein Hund in vier Experimenten einen Anstieg der Speichelsekretion, sechs Hunde zeigten eine Hemmung von maximal 50 %, und bei acht Hunden war keinerlei Effekt von Amodiaquin auf die Speichelsekretion zu erzielen, selbst bei einer Dosis von 4 mg/kg der Droge nicht.

Ähnliche Resultate wurden bei der Parotis der gleichen Hunde beobachtet.

Bei sechs Hunden wurde die Wirkung von Amodiaquin auf die Pankreas- und Gallesekretion untersucht. Amodiaquin wurde 5 - 30 min vor Secretin i.a. injiziert, es konnte jedoch keinerlei Wirkung auf die Galle- und Pankreassekretion beobachtet werden.

So scheint die Wirkung von Amodiaquin auf die Magensaftsekretion weitgehend spezifisch zu sein, da keine andere der untersuchten exokrinen Drüsen eine Antwort vergleichbar der Pentagastrin-stimulierten Magensekretionssteigerung nach Amodiaquin zeigte.

Tab. 6: Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen der Erhöhung
der Pentagastrin-stimulierten Magensaftsekretion
und Amodiaquin

Dosis von Pentagastrin ($\mu\text{g/kg i.m.}$)	Steigerung der Magensaftsekretion in % durch Amodiaquin (i.m.)			
	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	2.0 mg/kg	3.0 mg/kg
Volumen				
1.0	0	21	39	<u>85</u>
3.0	2	28	<u>72</u>	40
6.0	16	<u>38</u>	28	0
Säure-Ausstoß				
1.0	0	26	40	<u>83</u>
3.0	0	28	<u>73</u>	20
6.0	21	<u>45</u>	43	0

4. Einfluß von Pharmaka des Histaminstoffwechsels und Hypothermie (Histaminfreisetzung) bei der Streßulcus-pathogenese:

Durch Hemmung des Histaminabbaues durch die unter Punkt E.4. genannten Substanzen konnte eine Steigerung der Magensaftsekretion sowie durch Hemmung der Histaminbildung (s.E.4.) eine Erniedrigung der Säurewerte erzielt werden. Diese Ergebnisse ließen eine gezielte Beeinflussung des Histaminstoffwechsels annehmen.

Der Histamingehalt der Magenschleimhaut war nur bei der Thiamazolgruppe erniedrigt. Die Messung des Plasmahistamins (10.6 ± 4.2 ng/ml) ergab in Normothermie keine Änderung, in Hypothermie fanden wir eine Zunahme der Plasmahistaminkonzentration, die bei allen Gruppen etwa 100 % des Ausgangswertes betrug. Diese Zunahme war nicht vom Streßmodell, sondern allein von der Temperatursenkung abhängig.

Nach 2 mg/kg Polymyxin B, dessen histaminliberierende Wirkung bekannt ist, verdoppelte sich der Plasmahistamingehalt ebenfalls. Die Mägen der mit Polymyxin B behandelten Tiere boten das Bild einer haemorrhagischen Gastritis. Bereits eine Stunde nach Injektion sah man bei allen Tieren eine auffallende Hyperämie und Dilatation der Schleimhautkapillaren im Drüsenmagen.

Bei hohen Plasmahistaminwerten, wie sie durch Hypothermie hervorgerufen wurden, führte die Blockierung des Histaminabbaues zur signifikanten Erhöhung der Ulcusquote auch bei männlichen Ratten. Offenbar ist die Menge an freigesetztem Histamin aus Muskel, Haut und anderen Organen für diese Wirkung entscheidend. In Normothermie genügt zwar die Histaminmenge, um die Sekretion zu steigern, sie reicht jedoch für eine ulcerogene Wirkung nicht aus.

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß dem Histamin bei der Pathogenese streßbedingter Ulcera eine steigernde und modifizierende, nicht aber die entscheidende Bedeutung zukommt. (s. auch Tab. 7).

Tab. 7: Prozentuale Häufigkeit akuter Erosionen und
Ulcerata im Rattenmagen nach Beeinflussung des
Histaminstoffwechsels

Technik	Normothermie			
	n	Streß	Streß + Vorbehandl.	Signif.
I + AGS	10	60 $\pm$ 8	62 $\pm$ 9	--
I + TH	8	55 $\pm$ 12	65 $\pm$ 16	p 0.2
I + HB	8	62 $\pm$ 14	70 $\pm$ 9	p 0.2
Hypothermie				
I + AGS	14	46 $\pm$ 20	71 $\pm$ 25	p 0.02
I + TH	10	41 $\pm$ 22	12 $\pm$ 15	p 0.005
I + HB	14	72 $\pm$ 23	49 $\pm$ 28	p 0.025

Mittelwerte $\pm$ SD. 1 Versuch = 10 Tiere. n = Zahl der Versuche,
I = Immobilisation, AGS = Aminoguanidinsulfat 100 mg/kg i.p. 12
Std. und unmittelbar vor dem Versuch. TH = Thiamazol 80 mg/kg i.p.
täglich über 14 Tage. HB = Heparinoid "Bayer" 5 mg/kg i.p. 12 Std.
und unmittelbar vor dem Versuch.

VI. DISKUSSION:

1. Speichelmodelle:

Da die Befunde zweier verschiedener Arbeitskreise über die Rolle des Histamins bei der Sekretion der Glandula submandibularis des Hundes einerseits (WERLE und LORENZ, 1964 und 1966; LORENZ et al., 1967; LORENZ et al., 1967 und 1967a) und der Katze andererseits (ERJAVEC et al., 1967; BRODIE et al., 1966) gut übereinstimmen, wird im folgenden ein Modell der Mediatorfunktion von Histamin bei der parasympathisch induzierten Salivation zur Diskussion gestellt:

Histamin findet sich bei der Ratte zu 20 % (BRODIE et al., 1966), beim Hund zu 50 % (LORENZ et al., 1968b) und bei der Katze zu fast 100 % (BRODIE et al., 1966) in der Glandula submandibularis in den Nichtmastzellspeichern, die als glandotroper Histaminspeicher bezeichnet werden, da Histamin aus ihm durch parasympathischen Reiz freigesetzt (WERLE und LORENZ, 1964 und 1966; BRODIE et al., 1966; LORENZ et al., 1968b; ERJAVEC et al., 1967) und direkt auf die Elemente derselben Drüse wirkt. Nachdem auf Pilocarpinreiz die Aktivität der spezifischen HDC, die sich ebenfalls in den Nichtmastzellspeichern findet (THUNBERG, 1967; AURES, 1967), um 200 - 300 % zunimmt (LORENZ et al., 1968b) und die beobachtete Aktivitätssteigerung der Histaminfreisetzung in den Speichel proportional ist, erfolgt die Histaminbildung also adaptativ.

Der Histaminumsatz erfolgt in der Glandula submandibularis von Mensch, Hund, Schwein und Rund durch eine sehr aktive Diaminoxidase (LORENZ et al., 1968a und 1968b).

In den Speicheldrüsen von Hund (LORENZ et al., 1968b), Katze und Ratte (BRODIE et al., 1966; ERJAVEC et al., 1967; VEAVEN et al., 1967) wird Histamin in Speicher aufgenommen, die durch parasympathischen Reiz, nicht aber durch 48/80 entleert werden können.

Atropin hemmt die histamininduzierte Salivation nur zum Teil (OSBORNE, 1951; EMMELIN, 1966), nach anderen Befunden vollständig (WERLE und LORENZ, 1966), was mit der unterschiedlichen Stimulierung der Salivation vor und nach parasympathischer Vorstimulierung durch Histamin übereinstimmt. Atropin hemmt aber auch die Histaminfreisetzung in der Drüse, ferner reduziert es die Histaminbildung (BRODIE et al., 1966).

Nach diesen Befunden ist es möglich, das in Abb. 4 gezeigte Modell einer Mediatorfunktion von Histamin bei der parasympathisch induzierten Salivation aufzustellen.

Parasympathomimetika setzen direkt oder indirekt Histamin aus dem Nichtmastzellspeicher frei, Atropin verhindert diese Freisetzung. Das freigesetzte Histamin greift am Histaminreceptor des Acinus, des Gangsystems und den Myoepithelien an und stimuliert die Sekretion.

Durch Diaminoxidase zwischen Histaminspeicher und -receptor wird Histamin rasch inaktiviert.

Die Steigerung der Histaminwirkung durch Vorstimulierung erklärt sich möglicherweise durch Förderung der Histaminaufnahme in den Speicher durch Parasympathomimetika, was für Acetylcholin bei niedermolekularen organischen Kationen zutrifft (HOKIN, L. and HOKIN, M., 1960). Auch könnte eine unterschwellige Konzentration eines Parasympathomimetikums genügen, um nach maximaler Füllung des Speichers, durch exogenes Histamin, dieses zu verdrängen und so die Sekretion leicht in Gang zu setzen.

Die Hemmung der Cholinesterase in diesem Modell durch Histamin (WERLE und JOOS, 1949) erscheint sinnvoll, da Histamin seine eigene Freisetzung fördern und die Sekretion in Gang halten könnte. Die Wirkung von Histamin in der Speicheldrüse allein auf die Hemmung der Cholinesterase zurückzuführen, erscheint im Hinblick auf die Befunde mit Physostigmin, Atropin und den Antihistaminika jedoch zu weitgehend.

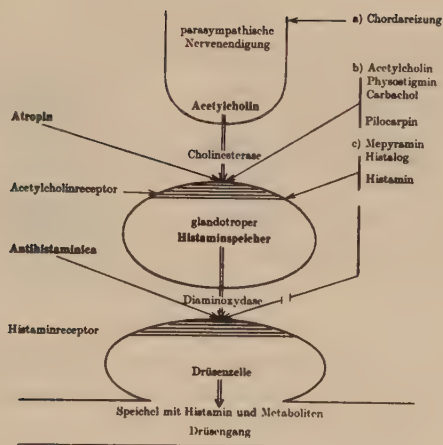


Abb. 4: Modell der Mediatorfunktion von Histamin bei der parasympathisch induzierten Salivation (s. Text).

2. Histamintheorie der Magensaftsekretion:

Als erster stellte CODE 1956 das Konzept auf, daß Histamin der finale Chemostimulator der Magensaft- und -säuresekretion sei. Der N. vagus (Acetylcholin), das antrale Hormon Gastrin und exogenes Histamin üben danach ihre Wirkung auf die Magen- sekretion nicht direkt an der Belegzelle, sondern durch Freisetzung von Histamin in der Magenschleimhaut aus (Abb. 5).

Bei einem physiologischen Chemostimulator müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

1. Der Chemostimulator muß in ausreichender Menge am Ort der Wirkung oder in seiner unmittelbaren Nähe vorkommen.
2. Er soll dort rasch gebildet und umgesetzt werden.
3. Er soll bei der Stimulierung in gesetzmäßiger Weise freigesetzt werden, und die dabei liberierte Menge muß ausreichen, um die unter physiologischen Bedingungen geforderten Leistungen vollbringen zu können.
4. Bildung und Umsatz, Speicherung und Entspeicherung sollen über einen Regelkreis gesteuert werden, zwischen Freisetzung und Stoffwechsel sollen bestimmte Beziehungen bestehen.
5. Spezifische Antagonisten sollen zu einer spezifischen Hemmung der Stimulierung führen.

Histamin kommt im belegzellhaltigen Teil des Magens bei allen bisher untersuchten Arten, einschließlich des Menschen, in für die jeweilige Spezies sehr hoher Konzentration vor. Praktisch alles Histamin ist in Mastzellen, die die wichtigsten Histaminspeicher sind, lokalisiert. Im Magen des Hundes, des Schweines und des Menschen sind es nur die atypischen Mastzellen als organspezifische Histaminspeicher, die sich in höchster Konzentration in jenen Bereichen der Magenschleim-

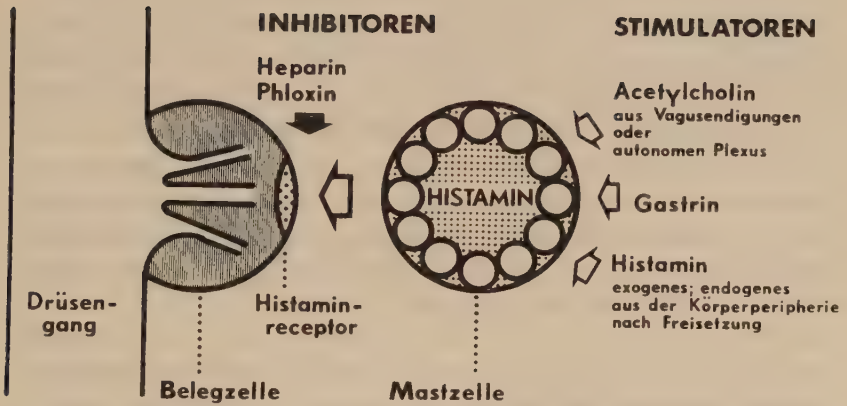


Abb. 5: Schema der Mediatorfunktion von Histamin als finaler Chemostimulator der Magensaft- und -säuresekretion (Erläuterungen s. Text).

haut finden, die auch die größte Belegzell-dichte aufweisen. Damit ist der erste Punkt der Forderungen erfüllt.

Im zweiten Punkt geht es um Bildung und Inaktivierung von Histamin in der Magenschleimhaut. Histidindecaboxylasen, die aus der Aminosäure L-Histidin Histamin bilden, wurden in der Magenschleimhaut aller untersuchten Säugetierarten nachgewiesen und erreichten ihre höchste Konzentration ebenfalls in Fundus und Corpus, wo die größte Belegzell-dichte angetroffen wird und wo sie auch aller Wahrscheinlichkeit nach in den atypischen Mastzellen vorkommen.

Von den Enzymen des Histaminumsatzes ist die Histaminmethyltransferase am wichtigsten, die in der Magenschleimhaut von Mensch, Hund, Schwein und Rind gefunden wurde und in Fundus und Corpus eine sehr hohe Aktivität zeigte. Mit diesen Befunden ist eine weitere Bedingung erfüllt.

Die dritte Forderung für einen physiologischen Chemostimulator betrifft die Freisetzung während des Ablaufs der stimulierten Organfunktion. Bei Mensch, Hund, Katze und Ratte konnte Histaminfreisetzung in den Magensaft nach Pentagastrin- bzw. Gastrinstimulierung nachgewiesen werden. Gastrin verringert bei der Ratte den Histamingehalt der Magenschleimhaut signifikant um etwa 30 %, es ist eindeutig als Histaminliberator aus Nichtmastzellspeichern nachgewiesen (s.o.). Dies ist ein bedeutender Befund, der für Histamin und gegen Gastrin als finalen Chemostimulator der Magensekretion spricht. Histaminmengen in einer Größe, wie sie durch Gastrin tatsächlich freigesetzt werden, stimulieren die Magensekretion auch in Abwesenheit von Gastrin (LORENZ und PFLEGER, 1968).

Weiterhin ist die gastrininduzierte Magensekretion durch Erzeugung einer Hypercalcämie hemmbar, nicht aber die histamininduzierte, was dafür spricht, daß durch die Wirkung des Calciums, Gastrin das intrinsic Histamin, nicht mehr liberieren

kann, Histamin aber als letztes Glied der Reaktionskette wirksam bleibt.

Viele andere Befunde sprechen noch für Histamin als finalen Chemostimulator und gegen Gastrin, es soll nur noch angeführt werden, daß die gastrininduzierte Magensaftsekretion durch Hemmstoffe des Histaminumsatzes verstärkt wird (LORENZ und PFLEGER, 1968). Für diese Tatsache spricht auch der Befund, daß nach Behandlung mit Amodiaquin (s.o.) durch Hemmung der HMT die pentagastrinstimulierte Magensekretion ansteigt. Seit in den Experimenten von LORENZ et al. (1972) bewiesen wurde, daß Amodiaquin praktisch keine parasymphomimetischen Wirkungen besitzt, ist die vorsichtige Interpretation erlaubt, daß Amodiaquin die HMT hemmt und das durch Pentagastrin freigesetzte Histamin voll zur Wirkung kommen und damit die Magensekretion steigern kann.

Gastrin setzt also im Magenfundus und -corpus Histamin frei (gemessene Histaminzunahme im Magensaft nach Pentagastrin 110 %), Histamin ist aber auch ohne Gastrin wirksam, sogar bei Hemmung der gastrininduzierten Magensekretion. Umgekehrt wird durch Hemmung der Histaminbildung bzw. durch gesteigerten Histaminumsatz die Wirkung von Gastrin auf die Magenschleimhaut stark vermindert bzw. sogar völlig aufgehoben. Es erscheint deshalb gesichert, daß Gastrin durch Histaminfreisetzung die Magensaftsekretion stimuliert. Der Nachweis der Histaminfreisetzung durch Pentagastrin sowie der Nachweis von Histamin im Magensaft unterstützen unsere Hypothese, da Histamin nicht aus dem Plasma stammen kann (s.o.) und im Magensaft nicht gebildet wird.

Nach KAHLSON et al. (1964) setzt die Histaminfreisetzung durch Gastrin einen Rückkopplungsmechanismus in der Magenschleimhaut in Gang, der die Histaminverluste bei der Sekre-

tion ständig wieder ersetzt. Damit ist eine weitere Bedingung erfüllt.

Als letzte Bedingung ist die Forderung nach Hemmung der stimulierten Organfunktion durch spezifische Antagonisten erhoben worden. Bis heute verfügen wir jedoch über keine Substanz, die in Stärke und Spezifität etwa dem Atropin im Falle des Acetylcholins gleichkommt. Die gebräuchlichen Antihistaminika haben eine zu geringe Affinität zu den Rezeptoren des Histamins. Als einzige Hemmstoffe haben sich bisher nur einige Heparine, die die Freisetzung von Histamin verhindern, und das bisher nur bei der Ratte untersuchte Phloxin erwiesen. Damit sind zwar die Forderungen für Histamin als Stimulator der Magensaftsekretion nicht vollständig, jedoch nahezu erfüllt. Weitere Untersuchungen zur vollständigen Klärung müssen folgen.

3. Streßulcuspathogenese:

Histaminfreisetzung spielt bei pathologischen Prozessen im Verdauungstrakt ebenfalls eine wichtige Rolle. Nach RÄSÄNEN (1963) führen ACTH und Glucocorticoide, nach GUTH und HALL (1966) Streß, durch Fesselung des Versuchstieres zur Degranulierung von Mastzellen in den oberflächlichen Schichten der Magenschleimhaut von Ratten. Die Entstehung von Streßulcera wurde vor allem mit folgenden drei Faktoren in Zusammenhang gebracht:

1. Erhöhter Vagotonus (durch Reizung von Vaguszentren im Hypothalamus und als Folge Stimulation der Säure- und Pepsinsekretion des Magens, durch Vagotomie lassen sich solche Folgen vermeiden).
2. Erhöhter Sympathikotonus.
3. Vermehrte Freisetzung von ACTH.

Die damit einhergehenden Durchblutungsstörungen in den betreffenden Gewebebereichen, nämlich starke Blutfülle der Kapillaren im Bereich der Halsregion der Hauptdrüsen, Oedembildung durch erhöhte Permeabilität und Hämorrhagien lassen sich durch die Wirkung von freigesetztem Histamin weitgehend erklären.

Weiterhin weist eine Fülle tierexperimenteller Befunde darauf hin, daß das Histamin-Histidindecaboxylase-System bei der Genese des Streßulcus im Tierexperiment eine wichtige Rolle spielt. Nachdem man aufgrund fluoreszenzmikroskopischer Befunde weiß, daß Histamin in der menschlichen Magenschleimhaut ausschließlich in Mastzellen lokalisiert ist und aus Histidin durch eine sehr aktive HDC gebildet sowie durch eine hochaktive HMT inaktiviert wird, sind die Voraussetzungen geschaffen, die eine Rolle des Histamins nicht nur bei der Ratte, sondern auch beim Menschen in der Pathogenese des Streßulcus möglich erscheinen lassen.

Folgender Befund spricht zudem für diese Hypothese: die Hyperchlorhydrie bei Patienten mit Mastocytose ließ sich durch NSD 1055 vermindern (LEVINE, 1966). Damit ist die Möglichkeit gegeben, daß eine prophylaktische Behandlung mit Brocresin (NSD 1055) oder antithyreoidalen Substanzen, die bei Ratte und Meerschweinchen die Histaminbildung in vitro und in vivo hemmen (LORENZ et al., 1967, LORENZ und PFLEGER, 1968) und bei Streßsituationen die Gefahr der Entstehung perakuter Ulcera beim Menschen verringert.

VII. Z U S A M M E N F A S S U N G :

1. Histamin und Speichelsekretion:

- a) Histamin, ebenso seine Bildung und Inaktivierung, wurde bisher in Submandibulardrüsen und Parotiden verschiedener Spezies in unterschiedlicher Konzentration nachgewiesen, von denen der Mensch die niedrigste zeigte.
- b) Histamin wurde im Speichel nach Stimulation der Sekretion mit Pilocarpin und Acetylcholin bei Hund und Katze gemessen, wobei sich die Notwendigkeit der Erarbeitung eines geeigneten Bestimmungsverfahrens erwies.
- c) Als geeignetes Verfahren ergab sich die kombinierte Bestimmungsmethode, mit der sich in parallel laufenden Plasma-Histamin-Konzentrationsbestimmungen dem Plasma gegenüber um etwa das 10-fache höhere Speichelhistaminwerte ergaben.
Damit war der Nachweis erbracht, daß das im Speichel gemessene Histamin nicht aus dem Plasma stammt, sondern in den Speichel freigesetzt wurde, da im Speichel keine Histaminbildung erfolgt.
- d) Es gelang weiterhin, die nach der kombinierten Methode aus dem Speichel isolierten und gemessenen "Histaminäquivalente" als tatsächliches Histamin zu identifizieren, was mittels Dünnschichtchromatographie in 6 verschiedenen Laufmitteln, durch enzymatischen Abbau mit Diaminoxidase und Histaminmethyltransferase sowie Vergleich der Anregungs- und Fluoreszenzspektren von "Histaminäquivalenten" und authentischem Histamin geschah.
- e) Bei dem Versuch, die Speichelsekretion durch Amodiaquin zu beeinflussen, zeigten sich unterschiedliche Ergebnisse: In der Mehrzahl der Versuche war keinerlei Effekt auf die Speichelsekretion zu erzielen, nur einmal

zeigte sich ein Anstieg der Sekretion, während sechs Hunde sogar eine Hemmung zeigten.

- f) Schließlich wird ein Modell der Mediatorfunktion von Histamin bei der parasympathisch induzierten Salivation zur Diskussion gestellt: danach setzt das Acetylcholin der parasympathischen Nervenendigungen Histamin aus dem glandotropen Histaminspeicher frei, das seinerseits als Überträgerstoff die verschiedenen Drüsenzellen stimuliert.

2. Histamin und Magensaftsekretion:

- a) Es wurde versucht, mit Amodiaquin, einem Hemmstoff der Histaminmethyltransferase, die Magensaftsekretion zu beeinflussen. Dabei ging es um die Fragestellung nach dem finalen Chemostimulator der Magensaftsekretion.
- b) Die durch Pentagastrin induzierte Magensaftsekretion konnte durch Vorbehandlung mit verschiedenen Dosen Amodiaquin gesteigert werden. Dabei ergab sich eine Dosis-Wirkungsbeziehung. Die Sekretionssteigerung durch Amodiaquin war zum zweiten abhängig von der benutzten Dosis Pentagastrin.
- c) Da Amodiaquin auf die Pankreas- und Gallesekretion keinerlei Wirkung ausübte, muß der bisher beobachtete alleinige Effekt auf die Magensaftsekretion als weitgehend spezifisch angesehen werden.
- d) Zum Schluß wird wiederum ein Modell der Mediatorfunktion des Histamins bei der Magensaftsekretion zur Diskussion gestellt. Dabei ist durch die vorliegenden Untersuchungen, in denen eine spezifische Hemmung der Histaminmethyltransferase durch Amodiaquin und damit eine Magensekretionssteigerung gezeigt werden konnte, die Hypothese, daß Histamin der finale Chemostimulator der Magensaftsekretion sei, nachdem es durch Pentagastrin freigesetzt wurde, erhärtet worden.

3. Streßulcuspathogenese:

- a) Durch verschiedene Hemmstoffe des Histaminabbaues und durch Histaminliberatoren wurde bei männlichen Ratten die Wirkung von vermehrter Histaminfreisetzung bei der Entstehung von Streßulcera, wobei als Streßmodell die Immobilisation mit Gips gewählt wurde, untersucht.
- b) Parallel zu der makroskopischen sowie mikroskopischen Beurteilung der Rattenmägen wurden Plasmahistaminbestimmungen durchgeführt, die signifikant erhöhte Werte nach Streß in Hypothermie zeigten.
- c) Es ergab sich, daß die in Normothermie freigesetzte Histaminmenge zwar zur Sekretionssteigerung, jedoch nicht zu einer ulcerogenen Wirkung ausreicht, während in Hypothermie die Blockierung des Histaminabbaues zu einer signifikanten Erhöhung der Ulcusquote führte. Histamin kommt damit wohl eine steigernde und modifizierende Bedeutung, nicht aber die entscheidende Rolle bei der Streßulcuspathogenese zu.
- d) Da es durch bestimmte Pharmaka aber offenbar möglich ist, den Histaminstoffwechsel der Magenschleimhaut entscheidend zu beeinflussen, da außerdem auch der Mensch die Voraussetzungen erfüllt, die bei der Ratte gewonnenen experimentellen Ergebnisse übertragen zu können, ergeben sich wertvolle Hinweise auf eine mögliche Prophylaxe bei Streßsituationen zur Verringerung der Entstehungsgefahr perakuter Ulcera.

VIII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S :

ACKERMANN, D.:

Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 65, 504 (1910).

AMURE, B.O. and M. GINSBURG:

Brit. J. Pharm. 23, 476 (1964).

AURES, D. and W.G. CLARK:

Persönliche Mitteilung (unveröff., 1964).

AURES, D.:

Vortrag Ges. Morphologie u. Physiol., München, 7.11.1967.

BARGER, G. and H.H. DALE:

J. Physiol. (London) 40, 38 (1910).

BEAVEN, M.A., Z. HORAKOVA, H.D. JOHNSON, F. ERJAVEC and

B.B. BRODIE:

Fed. Proc. 26, 233 (1967).

BERNAUER, W. und B. LANGE:

Naunyn-Schmied. Arch. exp. Path. Pharm. 251, 178 (1965).

BERNAUER, W., H. GIERTZ und F. HAHN:

Naunyn-Schmied. Arch. exp. Path. Pharm. 250, 176 (1965).

BEST, C.H. and E.W. McHENRY:

J. Physiol. (London) 70, 349 (1930).

BLAIR, E.G.:

In "Gastrin", ucla, forum in medical, science, no. 5 (1966).

BLAIR, D.W. and A.P.M. FOREST:

Brit. J. Surg. 47, 428 (1960).

BOOZ, K.H., W. MOOTZ und K. MÜSEBECK:

Arch. Ohren-Nasen- und Kehlkopf-Heilkunde 185, 209 (1966).

BRODIE, B.B., BEAVEN, M.A., ERJAVEC, F. and JOHNSON, H.L.:

Wenner Gren, Center International Symposium Series,
Vol. 5, p. 401, Oxford, Pergamon Press (1966).

BROWN, D.D., R. TOMCHICK und J. AXELROD:

J. biol. Chem. 234, 2948 (1959).

BÜCHNER, F. and F.S. MOLLOY:

Klin. Wschr. 6, 2193 (1927).

- CODE, C.F.:
Fed. Proc. 25, 1311 (1966).
- NOTEVALL, G., S.E. LINDELL and H. WESTLING:
Acta med. scad. 174, 325 (1963).
- EMAS, S., K.G. SWAN and E.D. JAKOBSON:
Handbook of Physiologie, Sec. 6, p. 743 - 756 (1967),
Werner Heidel, Washington.
- EMMELIN, N. and G.S. KAHLSON:
Acta phys. scad. 8, 289 - 304 (1944).
- EMMELIN, N.:
Histamine and Antihistaminics, Handbuch der exp.
Pharmal., Bd. 18/II, S. 298, Berlin-Heidelberg-New York,
Springer (1966).
- ERJAVEC, F., M.A. BEAVEN and B.B. BRODIE:
Fed. Proc. 26, 237 (1967).
- FELDBERG, W.:
Ciba foundation symposium on histamin,
p. 4, London, J. u. A. Churchill (1956).
- FELDBERG, W. and G.W. HARRIS:
J. Physiol. (London) 120, 352 (1953).
- GASPAR, H. und W. LORENZ:
Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-Kehlkopf-Heilk. (1971).
- GUTH, P.H. and P. HALL:
Gastroenterology 50, 562 (1966).
- GUTH, P.H. and X. KOZBUR:
Amer. J. dig. Dis. 13, 530 (1968).
- GUTH, P.H. and X. KOZBUR:
Amer. J. dig. Dis. 14, 113 (1969).
- HAEGER, K. and G. KAHLSON:
Acta physiol. scand. 25, 230 (1952).
- HÄKANSON, R. and Ch. OWMAN:
Biochem. Pharmacol. 15, 489 (1966).
- HÄKANSON, R., B. LILJA and Ch. OWMAN:
Europ. J. Pharmacol. 1, 188 (1967).
- HÄKANSON, R., B. LILJA and Ch. OWMAN:
Histochemie 18, 74 (1969).
- HOKIN, L.E. and M.R. HOKIN:
J. gen. Physiol. 44, 61 (1960).

- IVY, A.C. and W.H. BACHRACH:
Handbuch der exp. Pharmakologie
(in: Histamine and Antihistaminics), Hrsg. Farah
und Eichler, Bd. 18/1, S. 810 - 891, Berlin-Heidelberg-
New York, Springer (1966).
- JANUM, St. and H. ZACHRIAE:
Gut 8, 64 (1967).
- KAHLSON, G., E. ROSENGREN, D. SVAHN and R. THUNBERG:
J. Physiol. (London) 174, 400 (1964).
- KOBAYASHI, Y. and A.C. IVY:
Amer. J. Physiol. 195, 525 (1958).
- KOBAYASHI, Y. and A.C. IVY:
Amer. J. Physiol. 196, 853 (1959).
- KUSCHE, J., W. LORENZ, H. HAHN und E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. 264, 265 (1969).
- KUSCHE, J.:
Thesis, Univ. Munich, p. 15 (1970).
- LEE, H.M. and R.G. JONES:
J. Pharmacol. exp. Ther. 95, 71 (1949).
- LEVINE, R.J.:
Science 154, 1017 (1966).
- LINDE, S.:
Experientia (Basel) 5, 209 (1949).
- LINDE, S.:
Acta Physiol. scand. 21, Suppl. 74, 1 (1950).
- LORENZ, W., K. PFLEGER und E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 258, 150 (1967).
- LORENZ, W., G. HAUBENSAK, M. HUTZEL und E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 309 (1967).
- LORENZ, W., K. PFLEGER und E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 38 (1967).
- LORENZ, W. und K. PFLEGER:
Klin. Wschr. 46, 57 (1968).
- LORENZ, W., St. HEITLAND, E. WERLE, A. SCHAUER and H. GASTPAR:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 259, 319 (1968a).

- LORENZ, W., G. HAUBENSAK, M. HUTZEL and E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 260, 416 (1968b).
- LORENZ, W., H. HAENDLE, G. HAUBENSAK, H. HAHN and E. WERLE:
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 349, 940 (1968c).
- LORENZ, W., A. SCHAUER, St. HEITLAND, R. CALVOER and E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 265, 81 (1969).
- LORENZ, W., St. HALBACH, M. GERANT and E. WERLE:
Biochem. Pharmak. 18, 2625 (1969a).
- LORENZ, W., H. BARTH, G. FEIFEL and E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 266, 395 (1970).
- LORENZ, W. and E. WERLE:
Abtr. 4th Intern. Congress on Pharmacology, Basel,
p. 363 (1969).
- LORENZ, W.:
Diss. Univ. München, S. 22 (1965).
- LORENZ, W., St. HALBACH, M. GERANT and E. WERLE:
Biochem. Pharm. Vol. 18, pp. 2625 - 2637, Pergamon
Press (1969).
- LORENZ, W., A. SCHAUER, St. HEITLAND, E. MATEKJA and E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 264, 274 (1969b).
- LORENZ, W., St. HALBACH, G. FEIFEL, H. HAENDLE and E. WERLE:
Biochem. Pharmacol. 18, 2625 (1969).
- LORENZ, W.:
Thesis, Univ. of Munich (1969).
- LORENZ, W. and E. WERLE:
Internat. Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics,
Oxford: Pergamon Press (1969).
- LORENZ, W., H. BARTH and E. WERLE:
Naunyn-Schmied. Arch. Pharmak. exp. Path. 267, 421 - 432
(1970).
- LORENZ, W., G. FEIFEL, A. SCHMAL, M. HUTZEL und E. WERLE:
Klin. Wschr. 1970.
- LORENZ, W., H. BARTH, J. KUSCHE, H.J. REIMANN, A. SCHMAL,
E. MATEJKA, Ch. MATHIAS, M. HUTZEL and E. WERLE:
Europ. J. Pharmacol. 14, 155 (1971).

- MacINTOSH and W.D.M. PARON:
J. Physiol. (London) 109, 190 (1949).
- MOTA, J.:
Histamine and Antihistaminics, Handbuch der exp.
Pharmakologie, Bd. 18/I, S. 569, Berlin-Heidelberg-
New York, Springer (1966).
- NOORDWIJK, J. and P.N. AARSEN:
Brit. J. Pharmacol. 2, 253 (1954).
- OSBORNE, W.A.:
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 5, 1871 (1951).
- PEARSE, A.G.E.:
Vortrag Dtsch. Ges. f. Strahlenbiologie,
Neuherberg, Nov. 1967.
- PLENK, H.:
Handbuch der mikroskop. Anatomie des Menschen,
Bd. 5/II, S. 66, Berlin, Springer (1932).
- RAGINS, H., E.T. BENDITT, H.B. GREENLEE and L.R. DRAGSTEDT:
Gastroenterology 35, 1 (1958).
- RESNICK, R.H. and S.J. ORKY:
Gastroenterologie 41, 119 (1961).
- RÄSÄNEN, T.:
Acta physiol. scand. 58, 201 (1963).
- SCHAYER, R.W. and S.A. KARJALA:
J. biol. Chem. 221, 307 (1956).
- SCHAYER, R.W.:
Brit. J. of Pharmacol. 11, 472 (1956).
- SCHAYER, R.W.:
Physiol. Rev. 39, 116 (1959).
- SCHAYER, R.S. and E. SESTOKAS:
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 111, 557 (1965).
- SCHAYER, R.W.:
Histamine and Antihistaminics, Handbuch der exp.
Pharm., Bd. 18/1, S. 672, Berlin-Heidelberg-New York,
Springer (1966).
- SCHWARTZ, I., Y. COHEN and G. VALETTE:
Biochem. Pharmacol. 15, 2122 (1966).

- SELYE, H.:
The mast cells, p. 90, 94 - 102, London: BUTTERWORTH
and Co. (1965).
- SHORE, P.A., A. BURKHALTER and V.H. COHN jr.:
J. Pharmacol. Exptl. Therap. 127, 182 (1956).
- SNYDER, S.H. and J. AXELROD:
Fed. Proc. 24, 774 (1965).
- SOLCIA, E., G. VASSALO and R. SAPIETRO:
Z. Zellforsch. 81, 474 (1967).
- STUBRIN, M.I., B. DUCE, T. BREM, L.B. TECIMER and B.J. HAVER-
BACK:
Amer. J. dig. Dis. 10, 901 (1965).
- TELFORD, J.M. and G.B. WEST:
Brit. J. Pharmacol. 16, 360 (1961).
- THUNBERG, R.:
Exp. Cell Res. 47, 108 (1967).
- TROIDL, H., W. LORENZ, H. BARTH, W. SEIDEL, H. ROHDE, K. GOECKE,
A. SCHMAL and H. HAMELMANN:
Res. exp. Med. 157, 201 - 203 (1972).
- WATZKA, M.:
Kurzlehrbuch der Histologie und mikroskopischen Anatomie
des Menschen, S. 137, Stuttgart, F.K. Schattauer-Verlag
(1957).
- WEINSHELBAUM, E.J. and D.J. FERGUSON:
Gastroenterology 51, 1028 (1966).
- WEISSBACH, H., W. LOVENBERG and S. UDENFRIED:
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 50, 177 (1961).
- WERLE, E. und A. JOOS:
Ärztl. Forschung 3, 61 (1949).
- WERLE, E. und G. HARTUNG:
Biochem. Z. 328, 228 - 237 (1956).
- WERLE, E., J. TRAUTSCHOLD und D. AURES:
This. J. 326, 200 - 211 (1961).
- WERLE, E. und W. LORENZ:
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 338, 25 (1964).
- WERLE, E. und V. SCHIRREN:
Z. Ges. Exp. Med. 38, 522 - 530 (1965).

WERLE, E. und W. LORENZ:

Arch. int. Pharmacodyn. Therap. 161, 477 (1966).

WERLE, E. und W. LORENZ:

In: Bradykinin and related kinins, Advanc. exp.
Biol. Med., Vol. 8, 477, Plenum Press (1970).

WRIGHT, R.D. and E.R. TRETHEWIE:

Nature (London) 178, 546 (1956).

Meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. W. Lorenz, danke ich für die Überlassung des Themas und für seine leitenden, wertvollen Ratschläge zur Gestaltung dieser Arbeit.

Ebenfalls möchte ich an dieser Stelle Herrn Priv.-Doz. Dr. G. Feifel für die Unterstützung bei dieser Arbeit herzlich danken.

Ferner danke ich den Angehörigen des Institutes für ihre Hilfe.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. E. Werle für die Überlassung des Arbeitsplatzes und seine hilfreiche Anleitung bei dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 27. April 1944 wurde ich als Tochter des Lektors oec. Johannes Huhnd und seiner Ehefrau Helma Huhnd geb. Paul in Hühnstedt/Halle geboren.

Von 1950 - 1958 besuchte ich die Grundschule in Röntgental bei Berlin (DDR), anschließend die Bertha-vonSuttner-Schule in West-Berlin. Mitte September 1961, nach dem Bau der Berliner Mauer, gelang die Flucht nach West-Berlin, und ich legte im Juli 1963 an der B.-v.-Suttner-Schule die Reifeprüfung ab.

Von 1963 - 1964 studierte ich Historik und Anglistik an der Freien Universität Berlin.

Ab Wintersemester 1964 studierte ich an derselben Universität Medizin und bestand im Februar 1970 mein Staatsexamen.

Von April 1970 an leistete ich an der Chirurgischen Universitätsklinik München (Direktor: Prof. Dr. R. Zenker) und an der 2. Medizinischen Universitätsklinik (Prof. Dr. Buchborn) meine Medizinalassistentenzeit ab. Im Juli 1971 erhielt ich die Approbation als Arzt. Bis zum Dezember 1971 arbeitete ich bei Prof. Dr. Bodechtel an der Friedrich-Bauer-Stiftung. Im gleichen Monat heiratete ich meinen Kollegen Herrn Hans-Jürgen Reimann. Seit Januar 1972 sind wir in Marburg/Lahn, wo ich zunächst an der Neurologischen Universitätsklinik tätig war. Seit Oktober bin ich in der von mir angestrebten Facharztausbildung als Ophthalmologin an der Universitäts-Augenklinik.

